عالم البكتريا

World of Bacteria

تأليف

د. محمد الصاوى محمد مبارك — أستاذ الميكروبيولوجى بكلية الزراعة جامعة عين شمس

د. عبد الوهاب محمد عبد الحافظ — أستاذ الميكروبيولوجى بكلية الزراعة جامعة عين شمس

د. راوية فتحى جمال — أستاذ الميكروبيولوجى بكلية الزراعة جامعة عين شمس

الناشر

مكتبة أوزوريس

٥٠ شارع قصر النيل ـ القاهرة

٢٠٠٥

عالم البكتريا World of Bacteria – الطبعة الأولى – ١١٤٢ صفحة – القاهرة – ٢٠٠٥
يشتمل على كشافات

رقم الإيداع بدار الكتب بالقاهرة : ٢٠٠٥/٧١٣٨
الترقيم الدولى للكتاب تدمك ISBN : 977-5189-66-7

تأليف : د. محمد الصاوى محمد مبارك
د. عبد الوهاب محمد عبد الحافظ
د. راوية فتحى جمال

الناشر : مكتبة أوزوريس
٥٠ شارع قصر النيل القاهرة
ت ١٤٨٩ ٣٩١ و ١٩٠٣ ٣٩٦
ف ١٤٨٩ ٣٩١ / ٢٠٢
E-mail: osiris @menanet.net

المطبعة : مطبعة مجدى الشرقاوى لطباعة الأوفست
١٠ ش محمد موسى ، ميدان فيكتوريا ، شبرا ، القاهرة
ت ٢٠٢٣٠٦٢ ، محمول ٠١٠١٥٦١٤٤٠

© حقوق النشر والطبع والتوزيع للناشر والمؤلفين معاً – ٢٠٠٥

لايجوز نشر جزء من هذا الكتاب ، أو إعادة طبعه أو اختصاره ، بقصد الطباعة أو أختزان مادته العلمية أو نقله بأية طريقة ، سواء أكانت إلكترونية أو ميكانيكية أو بالتصوير أو خلاف ذلك ، دون موافقة خطية من الناشر والمؤلفين معاً .

المحتويات الموجزة*

* أنظر المحتويات التفصيلية فى أول كل باب ، وفى أول كل فصل بالكتاب

المحتويات الموجزة*

* أنظر المحتويات التفصيلية فى أول كل باب ، وفى أول كل فصل بالكتاب

المحتويات الموجزة*

الموضوع	الصفحة

* أنظر المحتويات التفصيلية فى أول كل باب ، وفى أول كل فصل بالكتاب

المحتويات الموجزة*

الموضوع	الصفحة

* أنظر المحتويات التفصيلية فى أول كل باب ، وفى أول كل فصل بالكتاب

المحتويات الموجزة

الموضوع	الصفحة

الغــلاف

بيان بالأشكال التى على غلاف الكتاب ، حسب ترتيب الأشكال من اليمين إلى اليسار ، ثم من أعلى إلى أسفل

مجهر مركب ، شكل تخطيطى لبكتريا ذات أسواط محيطية ، بكتريا كروية عنقودية
مستعمرات لبكتريا الكولاى نامية على بيئة أجار ماكونكى ، مستعمرات بكتريا *Alcaligenes faecalis*
فى أطبــاق مخطوطــة نامية على بيئة أجار الدم ، بكتريا كروية عنقودية
بكتريا كروية ، مستعمرات بكتريا برازية مخمرة لسكر اللاكتوز نامية على بيئة أجار ماكونكى
بكتريا استربتوكوكاس كروية فى سلاسل

* أنظر المحتويات التفصيلية فى أول كل باب ، وفى أول كل فصل بالكتاب

(مقدمـــــة)

عالم البكتريا ، عالم واسع فسيح ، مليء بالأسرار التى أخذت فى التكشف والايضـاح ، وهو يضم الآلاف من الكائنات الحية الدقيقة ، التى تمثل (بشقيها الممثلة للضوء وغـير الممثلـة للضوء) جزءا أساسياً من علم الميكروبيولوجى Microbiology ، وتمتد جذور هذا العلـم إلـى علوم النبات والحيوان والكيمياء الحيوية والوراثة وعلـوم البيئـة ، بالإضافـة إلـى الفيزيـاء والرياضيات .

وتختلف البكتريا عن الكائنات الحية الأخرى الميكروبية والنباتيـة والحيوانيـة ، فـى تنوعها وفى خواصها الفريدة ، مما جعل للبكتريا مميزات خاصة بها ، وضعتـها فـى مملكـة تقسيمية مستقلة عن باقى الكائنات ، ألا وهى مملكة بدائيات النواة .

ولسهولة تداول البكتريا ، وسرعة نموها، وقدرتها الكبيرة على التأقلم ، بالإضافة إلـى صفـات أخرى عديدة ، فإنها أصبحت الأداة المفضلة فى بحوث الكيمياء الحيوية والوراثة وفـى تقنيـات الهندسة الوراثية ، وبذلك أسهمت فى حل كثير من المشاكل الأساسية الخاصة بعلوم الحياة .

وقد أصبحت البكتريا وأنشطتها المختلفة ، المفيدة وماأكثرها ، والضارة وماأقلها ، تمثل إهتماماً متزايداً من إهتمامات المجتمع ، سواء على المستوى المحلى أو العالمى ، وذلك بسـبب الأدوار التى تلعبها تلك الكائنات الدقيقة فى الأوساط البيئية المختلفة كالهواء والمياه والأراضـى والأغذية ، وفى علاج مشاكل البيئة ، وفى تدوير المصادر الطبيعية ، وانتاج نواتـج تخميريـة عديدة ، وفى قدرتها على المساهمة فى حل مشكلة نقص البروتين العالمى كغذاء ، وانتاج الطاقة الحيوية (غاز المثيان) ، إضافة إلى أهميتـها فـى النواحـى العلاجيـة ، وخطـورة بعضـها (حوالى ١٥% من أنواعها المختلفة) ، فى الأمراض التى تسببها للنبات والحيوان والإنسان .

وقد حاولنا فى هذا الكتاب ، تقديم رؤية شاملة ، ولكن متعمقة ومتخصصة ، خاصـة بالمعلومات الأساسية المتعلقة بالبكتريا ، من حيث موقعـها بيـن الأحيـاء وأهـم مجموعاتـها التصنيفية ، وتركيب خليتها وطرق تكاثرها ، والعوامل الفيزيائية والكيميائيـة المتحكمـة فـى أنشطتها ، ومايتعلق بصفاتها الفسيولوجية والوراثية ، وماتنتجه من مواد عديدة ، وماتقوم به من تغيرات مفيدة أو ضارة بالوسط المحيط بها ، ولزيادة الايضاح ، فقد قمنا بتزويد الكتاب بـالكثير من الجداول المُجمّعة للمعلومات ، ووضع العديد من الصور والأشـكال ، وتذييـل كـل بـاب بالمراجع المناسبة ، للرجوع اليها لزيادة الفائدة .

وهدفنا من ذلك أن نوفر للقارىء المعلومات الأساسية المتعلقة بالبكتريا ، ليس فقط لمن يدرس علم البكتريا فى المعاهد العلمية المختلفة ، ولكن أيضا لكل مـن يعمـل أو يبحـث فـى المجالات الحيوية المتعددة الجوانب للبكتريا .

أننا ندين بالفضل كل الفضل لمن تعلمنا منهم ، وزودونـا بخبراتـهم ، ونذكـر بكـل الإجلال من رحل منهم عن عالمنا ، كما نعترف بالجميل لمن أخذنا عنهم ، ونقدم الشكر ، لكـل من عاوننا لإخراج هذا الكتاب ، خاصة السيدة ثريا حلمى محمود ، لما بذلته من جهد فى كتابـة أصول الكتاب على الحاسب الآلى .

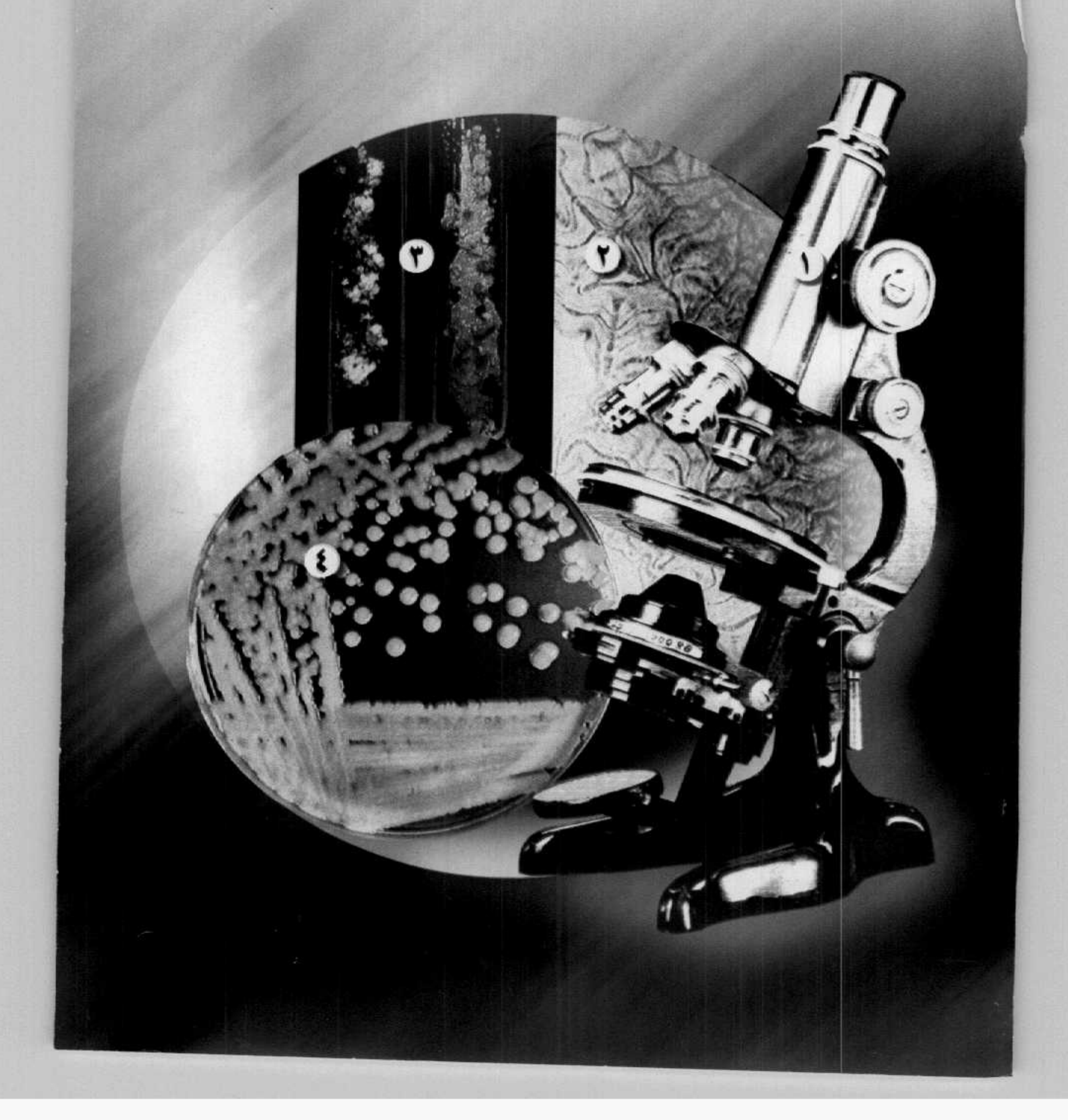
وعلى الله توكلنا ، وبه نستعين

القاهرة فى ٢/٢/٢٠٠٥ — المؤلفـون

I

Generalities

الجزء الأول
عموميـــــات



فاصل ١

بيان بالأشكال التى على ظهر هذه الصفحة

(١) مجهر مركب ، (٢) حافة سطح مستعمرة *Bacillus anthracis* كما تظهر تحت القوى الصغرى للمجهر الضوئى
(٣) بكتريا *Nocardia madurae* نامية فى أنابيب على بيئة أجار سابورود – جلوكوز
(٤) مستعمرات بكتريا *Klebsiella pneumoniae* فى أطباق مخطوطة نامية على بيئة أجار ماكونكى

دا

«الباب الأول»

تاريخ الميكروبيولوجـــــى

المحتويـــات

الموضوع | **الصفحة**

(الباب الأول)

تاريخ الميكروبيولوجى History of Microbiology

البكتريا والسيانوبكتريا كائنات حية دقيقة ، تُمثل جزءا أساسيا من علم الميكروبيولوجى أحد فروع علوم الحياة Biology ، وحتى عام ١٦٦٠ ميلادية ، كانت كل المعلومات الخاصة بشكل وتركيب الكائنات الحية من نبات وحيوان ، محددة بمقدار ماتراه عين الانسان المجردة . وبسبب قدرة التكبير المحدودة لعين الانسان المجردة ، التى لاتستطيع أن ترى أشياء أقطارها أقل من ٠,١ مم ، فقد حال ذلك دون رؤية الانسان لعالم الميكروبات المثير، ولذلك فقد بدأ علم الميكروبيولوجى فى منتصف القرن السابع عشر ، عندما بدأ الانسان يهتم بصناعة العدسات وتجميعها ، لإعطاء تكبير يسمح برؤية الأشياء الصغيرة . وعندئذ أصبح الانسان قادرا على رؤية ذلك العالم غير المرئى من الأشياء المتناهية فى الصغر ، حية أو غير حية ، والتى كان مجرد التفكير فى وجودها ضربا من الخيال .

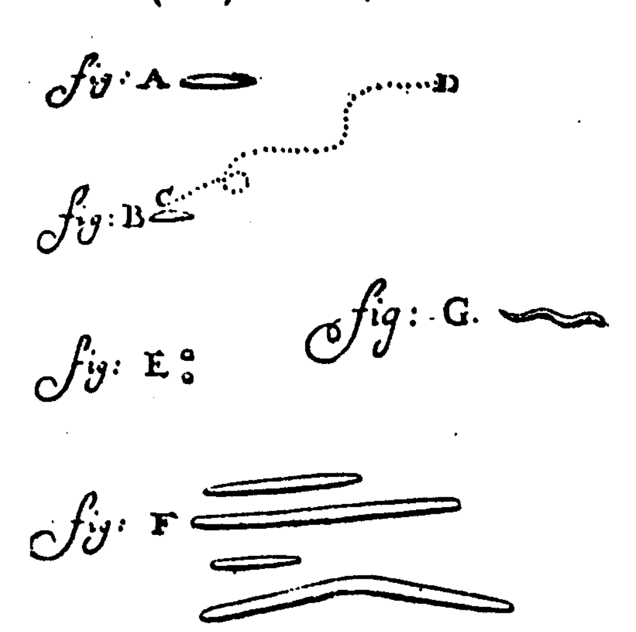
وبصناعة المجاهر (الميكروسكوبات) وتطورها ، فقد تطور علم الميكروبيولوجى إلى تلك الآفاق الواسعة التى وصلنا إليها الآن . وقد كانت البداية ، بفضل رواد أفاضل ، أضافوا بعلمهم الكثير فى مجال الميكروبيولوجى ، من أبرزهم :

أنتونى فان ليفنهوك (١٦٣٢ - ١٧٢٣) : Antony van Leeuwenhoek

كان ليفنهوك ، تاجر أقمشة فى مدينة دلفت Delft بهولندا ، يهوى الاشتغال بالعلوم وصناعة العدسات ، وهو يعتبر أول من سجل ملاحظات مع رسومات وأوصاف دقيقة للميكروبات بواسطة مجهره البسيط ، وذلك أثناء فحصه للعديد من الأشياء التى تحيط به ، مثل قطرات الماء ، اللعاب ، الدم ، السائل المنوى ، البول ، الروث ، المادة البيضاء المغطية للأسنان ، الشعر ، الأوراق النباتية ، القماش ... وغيرها (شكل ١-١) ، وشكل (١-٢) .



شكل ١-١ : أنتونى فان ليفنهوك (١٦٣٢-١٧٢٣) وتبين الصورة حجم وشكل المجهر الذى كان يستعمله .



شكل ١-٢ : الأشكال التى رسمها ليفنهوك عن عالم البكتريا الجديد الذى أكتشفه . يرى الشكل الكروى والعصوى والحلزونى وحركة البكتريا .

وقد سجل ليفنهوك هذه المعلومات إبتداء من عام ١٦٧٤ ، فى خطابات أرسلها للجمعية البريطانية الملكية فى لندن British Royal Society, London ، وقد كان هذا أول تسجيل لما يعرف الآن بالأحياء الدقيقة .

وعلى الرغم من دقة المعلومات التى سجلها ليفنهوك ، إلا أن المجهر الذى استخدمه كان ذا امكانيات محدودة ، لاتزيد قوة تكبيره عن ٣٠٠ مرة . ولم يكن من الممكن إجراء دراسات أكثر دقة لهذه الكائنات المتناهية فى الصغر ، والتى سميت فى ذلك الوقت بالحيوانات الصغيرة Animalcules ، إلا بعد تطور المجهر البسيط المستخدم آنذاك ، وصناعة المجهر المركب وتطوره ، وقد أخذ ذلك قرنا كاملاً من الزمان بعد وفاة ليفنهوك .

التوالد الذاتى : Spontaneous generation

أثار اكتشاف الميكروبات ، التفكير فى أصل ومنشأ هذه الكائنات الحية . وقد كان سائداً فى هذا الوقت ومن قرون عديدة ماضية ، الاعتقاد فى نظرية التوالد الذاتى ، التى تشير إلى أن هذه الكائنات تتكون ذاتيا ، أى بدون أصل حى ، وذلك فى الأغذية ، والأراضى الخصبة ، والجثث المتحللة ، والمياه الساخنة وغيرها من الأوساط . كما كان هناك رأى آخر ، يعتقد أصحابه ، بأن هذه الكائنات لكى تنمو ، لابد لها من أصل حى ، جراثيمGerms أو بذور Seeds توجد فى الهواء ، وسميت هذه النظرية بنظرية الجراثيم Germ theory .

سببت هذه الآراء جدلا كبيرا بين مؤيد ومعارض ، وكان أول من وضع شواهد أكيدة ضد نظرية التوالد الذاتى للميكروبات ، هو العالم الايطالى سباللانزانى (١٧٢٩ - ١٧٩٩) Lazaro Spallanzani ، الذى أثبت بالتجربة ، بأن غليان السوائل العضوية لمدة كافية ، مع إحكام قفل الأوعية لإبعاد الهواء والتراب ، يمنع نمو الكائنات الدقيقة بها ويمنع فسادها . غير أن عدم المعرفة فى ذلك الوقت ، بوجود جراثيم Spores شديدة المقاومة للحرارة ، لاتقتل بالغليان ، أدى إلى حدوث نمو للميكروبات فى سوائل غليت جيدا وأحكم قفلها ، مما دعم ثانية من نظرية التوالد الذاتى .

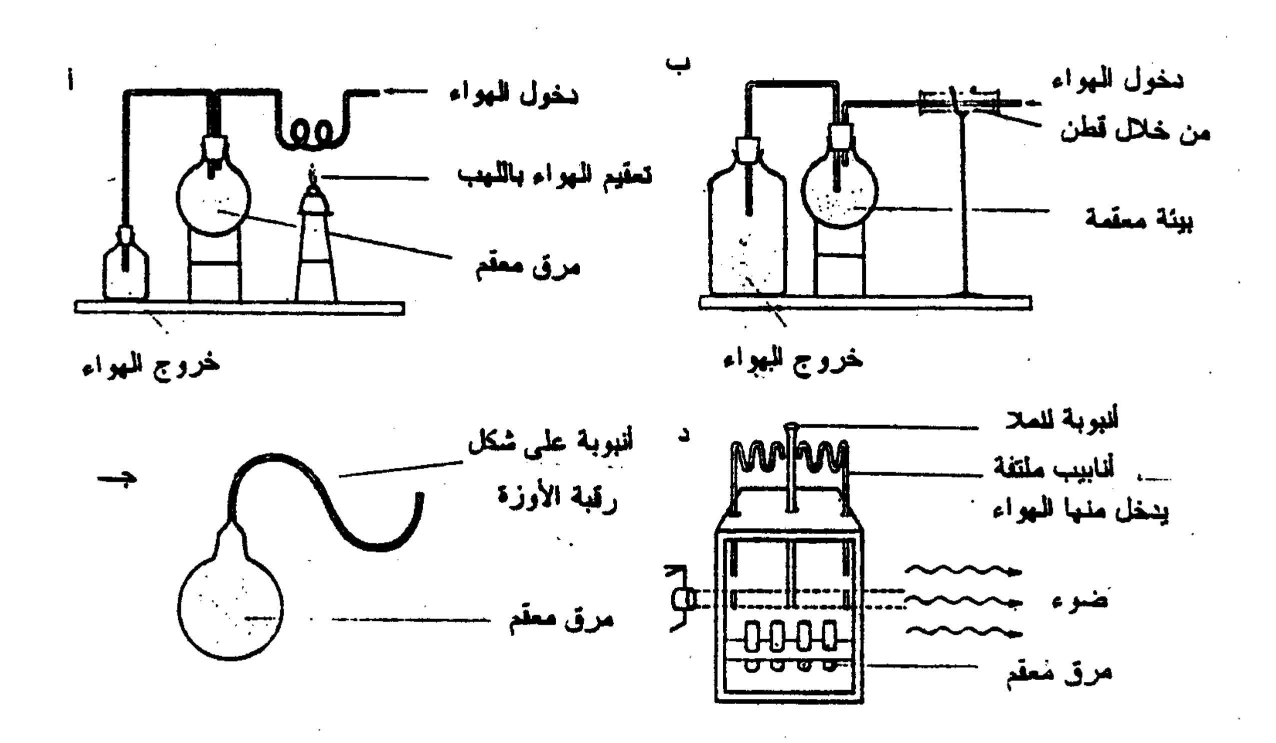
ولكن التجارب العديدة التى أجراها لويس باستير بعد ذلك ، ونشرها عام ١٨٦٤ ، هدمت نهائيا نظرية التوالد الذاتى . فقد أكدت هذه التجارب وجود الميكروبات فى الهواء وذرات التراب ، وأنه بإبعاد الميكروبات عن السوائل المعقمة فإنها لاتفسد ، مؤيدا بذلك ماسبقه من باحثين من أمثال Schulze & Schwann (١٨٣٦) ، وكذلك Schroder & von Dusch (١٨٥٠) .

ففى إحدى التجارب التى أجراها باستير ، استخدم دورقا يخرج من فوهته أنبوبة ضيقة طويلة منحنية ، على شكل رقبة الوزة Goose-necked flask ، تسمح بتبادل الهواء (غير المرشح ، أو غير المعامل ، أو غير المسخن) ، من وإلى المحلول المغذى (المرق) المعقم الموجود بالدورق ، فترسب الميكروبات والأتربة فى منحنى الأنبوبة دون أن تدخل إلى المحلول . بذلك منع تلوث المحلول بالميكروبات ، وأثبت أن السوائل العضوية (مثل المرق ، البول ...) يمكن أن تبقى معرضة للهواء أو الأتربة دون أن تنمو فيها الميكروبات ، طالما

أمكن منع وصول الميكروبات إليها . وفى تجارب أخرى أثبت باستير أن إمرار الهواء المسخن (أى الخالى من الميكروبات الحية) ، فى السوائل المغلية ، لم يؤد إلى نمو الميكروبات بها ، مما يؤكد أن الميكروبات مصدرها خارجى ، كما أثبت باستير أن إضافة سائل ملوث بالميكروبات إلى سائل آخر مغلى ، يؤدى إلى نمو الميكروبات بالسائل المعقم .

وبذلك وضعت دراسات باستير ، حداً لنظرية التوالد الذاتى ، وأثبت أن الميكروبات ، لابد لها من أصل حى ، حتى تنمو وتحدث تغيرات فى السوائل العضوية .

وأخيرا ، أثبت العالم الإنجليزى تندال (١٨٢٠ - ١٨٩٣) John Tyndall ، أن التراب يحمل الميكروبات . حيث أجرى مجموعة من التجارب ، فى أوعية صممها لهذا الغرض ، أكد فيها أن المرق المغذى المعقم الموجود بالوعاء ، يمكن أن يبقى خاليا من النمو الميكروبى ، طالما أن التراب لم يصل اليه شكل (١-٣) .



شكل ١-٣ : الأجهزة التى استخدمت لإثبات عدم صحة نظرية التوالد الذاتى ، وتعتمد كلها على منع دخول البكتريا المحمولة بالهواء

أ - التعقيم بالحرارة للهواء الداخل الى المزرعة (طريقة Schwann) .

ب - الترشيح بالقطن للهواء الداخل الى المزرعة (طريقة Schröder & von Dusch) .

جـ - استعمال دوارق متصلة بأنبوبة على شكل رقبة الأوزة (طريقة Pasteur) .

د - استخدام غرفة تحضين لاتدخلها أتربة (طريقة Tyndall) .

المرجع : **Pelczar M.J.Jr. and E.C.S. Chan, 1981.**
Elements of Microbiology, Mc Graw-Hill Book Co. Inc., New York.

أدت بحوث العالم تندال ، إلى اكتشاف وجود الجراثيم Spores الشديدة المقاومة للحرارة ، وأثبت أن الغليان لايكفى للتخلص منها ، وأن النمو الميكروبى فى السوائل المغلية المغطاه ، يعود إلى وجود الجراثيم ، وبالتخلص منها ، فإنه يمكن حفظ السوائل لفترات غير محدودة بدون نمو الميكروبات . وقد أرسى هذا العالم أسس عملية التعقيم المتقطع لقتل الجراثيم، وقد سميت الطريقة باسمه Tyndallization ، تكريما له .

إن هدم نظرية التوالد الذاتى ، كان ضروريا لتطور علم الميكروبيولوجى ، فبهدم تلك النظرية عرف أن نمو الميكروبات لابد له من أصل حى ، وأنه يمكن حفظ السوائل من الفساد بمنع وصول الميكروبات إليها ، وأنه يمكن تجنب الأمراض بمنع وصول الميكروبات إلى الغذاء والأنسجة السليمة ، وقد مهد ذلك الطريق لمعرفة طرق حفظ الأغذية ، ودراسة طرق العدوى ، وطرق الوقاية من الميكروبات المرضية .

لويس باستير (١٨٢٢ - ١٨٩٥) : Louis Pasteur

لويس باستير (شكل ١-٤) ، عالم فرنسى بارز ، كان يعمل أستاذا للكيمياء فى جامعة ليل Lille بفرنسا ، وهى منطقة تشتهر بصناعة النبيذ والبيرة ، وكان الناتج من هذه الصناعة سريع الفساد مع حدوث تعكير فى اللون ومرارة فى الطعم ، مما سبب خسائر اقتصادية كبيرة لفرنسا . وقد دفعت تلك الظروف باستير ، إلى دراسة النواحى المختلفة المتعلقة بتلك الصناعة ، للمساعدة فى حل مشاكلها، للوصول الى انتاج جيد .

ومن دراسات باستير العديدة ، وصل إلى الاستنتاجات الآتية

١ - التغيرات الكيميائية التى تحدث عند تخمر الحبوب والفواكه لانتاج الكحول ، عملية تتم بواسطة الميكروبات . فالميكروبات هى العامل المؤثر لإحداث هذه التغيرات الكيميائية ، وبذلك فإن هناك علاقة وثيقة بين تلك التغيرات الكيميائية وبين الميكروبات المعنية .

٢ - لكل نوع من أنواع التخمرات التى درست (كحولى ، لاكتيكى ، بيوتريكى) ، الكائنات الدقيقة الخاصة به ، التى تعطى الناتج الخاص بالتخمر .

٣ - أثناء التخمر الجيد ، تسود أنواع معينة من الميكروبات ، تختلف عن تلك السائدة فى التخمرات الرديئة . وعلى ذلك فإنه بالانتخاب الجيد للميكروب المناسب للتخمير ، فإن الناتج سيمتاز بجودته وتجانسه وثبات صفاته .

٤ - تصل الميكروبات غير المرغوب فيها إلى البيرة أو النبيذ ، من الهواء ، أو من مكونات بيئة التخمير ، أو من الأجهزة المستخدمة ، وبذلك تفسد المشروبات وتتغير صفاتها . بمعنى أنه إذا لم تحتوى تلك المشروبات على هذه الميكروبات ، فإنها ستبقى دون حدوث تغير فى صفاتها .



شكل ١-٤ : لويس باستير Louis Pasteur (١٨٢٢-١٨٩٥) .

وقد وجد باستير ، أنه يمكن التخلص من هذه الميكروبات الغير مرغوب فيها ، دون الاضرار بخواص المشروبات أو العصائر ، وذلك بالتسخين على درجة ٦٢,٨°م لمدة ٣٠ دقيقة أى بالتسخين على درجة حرارة أقل من درجة الغليان ، وبذلك تمكن باستير بهذه الطريقة من منع فساد المشروبات . وهذه الطريقة ، تعرف الآن باسم البسترة Pasteurization نسبة ألى مكتشفها باستير ، وقد أصبح استخدامها اليوم ، واسع الانتشار فى العمليات التخميرية ، ويعتبر عملاً روتينياً عند انتاج اللبن ، استخدام البسترة ، لقتل مابه من ميكروبات مرضية .

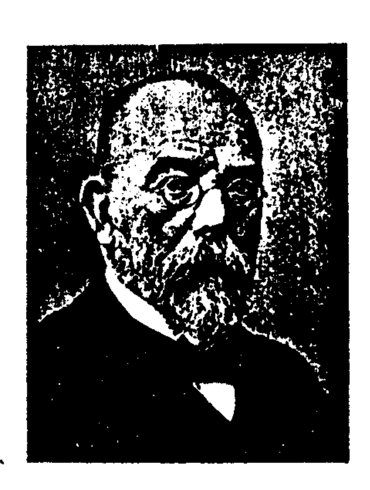
وأثناء بحوث باستير عن تخمر حمض البيوتريك ، كان هو أول من لاحظ أن بعض البكتريا تستطيع أن تنمو فى غياب أكسجين الهواء الجوى ، حيث وجد تأثيراً مثبطا للهواء على نمو هذه البكتريا . وأدخل مصطلح هوائى Aerobic ، ولاهوائى Anaerobic ، للتمييز بين الكائنات التى تنمو فى وجود أو فى غياب أكسجين الهواء الجوى .

وبالاضافة إلى الانجازات الضخمة الناجحة التى حققها باستير ، والتى سبق ذكر بعضها ، مثل هدم نظرية التوالد الذاتى وبحوثه عن التخمرات ، فقد أضاف باستير الكثير لعلم الميكروبيولوجى . فقد عزل ميكروب الخميرة المسبب للتخمر الكحولى ، وأثبت أن الميكروبات هى مسببات لبعض الأمراض ، فعزل البروتوزوا المسببة لمرض Pebrine of silkworm الذى يصيب دودة الحرير ، وكاد أن يدمر صناعة الحرير فى فرنسا ، ونصح المزارعين بتربية اليرقات السليمة الخالية من المرض . ودرس أيضا مرض الجمرة الخبيثة (الحمى التفحمية) Anthrax ، الذى كان يقضى على قطعان كبيرة من الأغنام والماشية ويصيب الانسان أيضا ، وتمكن من معالجة المرض ، وفى الوقت نفسه ، تمكن العالم الألمانى كوخ من عزل البكتريا المسببة لهذا المرض .

كما قام باستير أيضا بعزل البكتريا المسببة لمرض كوليرا الدجاج ، ولاحظ أثناء تجاربه على هذا المرض ، أن بعض البكتريا شديدة الحدة المرضية Virulent ، فقدت قدرتها على إحداث المرض ، وأصبحت ضعيفة الحدة المرضية ، أى موهنة Attenuated ، وإن كانت لم تفقد قدرتها على انتاج أجسام مضادة Antibodies ، تحمى الدجاج من المرض عند إصابتها بالبكتريا الممرضة . وقد استغل باستير هذه الظاهرة ، لانتاج لقاح Vaccine الجمرة الخبيثة ، واستخدمه فى عمليات التحصين ، وكذلك فى انتاج لقاح لمرض الكلب Rabies, Hydrophobia الذى يسببه فيروس ينتقل للإنسان عن طريق عضة حيوان مصاب ، وبذلك قدم للإنسانية خدمة جليلة ، بحمايتها من هذا المرض المميت .

كل هذه البحوث وغيرها التى أجراها باستير ، أرست قواعد علم الميكروبيولوجى ، مما دعى الكثير من العلماء الى اعتبار لويس باستير، هو المؤسس الحقيقى لعلم الميكروبيولوجى Father of Microbiology .

روبرت كوخ (١٨٤٣ – ١٩١٠) : Robert Koch



شكل ١-٥ : روبرت كوخ (١٨٤٣-١٩١٠)

فى تلك الأثناء ، تمكن العالم الألمانى روبرت كوخ ، (شكل ١-٥) أستاذ الصحة بجامعة برلين ، من وضع أسس التحضيرات الميكروبيولوجية التى سهلت عمليات فحص ودراسة البكتريا . فقد تمكن كوخ من صبغ البكتريا على الشرائح الزجاجية ، وتحضير البيئات الغذائية , وتصليب البيئات السائلة باستخدام مواد مصلبة مثل الجيلاتين للحصول على مستعمرات Colonies نامية على وسط صلب ، وقد سهل ذلك عزل البكتريا وتنقيتها والحصول على مزارع نقية Pure culture . كما تم فى معمل كوخ أيضا ، بواسطة الباحثة Hesse, Fanny استخدام الآجار بدلا من الجيلاتين ، لتصليب البيئات .

ويعتبر اكتشاف طرق تصليب البيئة بالجيلاتين والآجار ، والحصول على المزارع النقية ، تطورا هاما فى طرق عزل وتنمية الميكروبات . فقد أمكن بهذه الطرق ، عزل وتعريف الكثير من الميكروبات المسببة للعدوى ، والمسئولة عن التخمرات ، والمثبتة للنتروجين الجوى بالتربة ، وكذلك تلك التى تقوم بكثير من الأنشطة الميكروبية الأخرى .

وباستعمال هذه الطرق المعملية ، تمكن كوخ من عزل البكتريا المسببة لمرض الجمرة الخبيثة (١٨٧٦) ، وبكتريا السل (١٨٨٢) ، وبكتريا الكوليرا (١٨٨٣) . كما تمكن من وضع أسس التعرف على الميكروب الحقيقي المسبب للمرض ، علم Etiology ، والمعروفة **بإفتراضات كوخ Koch's Postulates** ، وهى

١ - يجب أن يرتبط دائما الميكروب المعين بنفس المرض ، وتظهر فى جميع الحالات نفس الأعراض .

٢ -يمكن عزل الميكروب المسبب من المرضى ، ويمكن تنميته بحالة نقية فى المعمل ، لدراسة خواصه المختلفة .

٣-تظهر على حيوانات التجارب القابلة للإصابة ، نفس المرض ، عند تلقيحها بميكروبات المزرعة النقية .

٤- يمكن عزل الميكروب مرة ثانية وتنميته بحالة نقية ، من حيوانات التجارب التى أصيبت بالمرض .

ومن الواضح ، فان بعض اقتراحات كوخ السابقة ، لاتنطبق على الأمراض التى تسببها ميكروبات متطفلة إجبارا ، وهى التى لايمكن تنميتها فى بيئات معملية ، كالفيروسات . ولذلك فإن ريفرز **Rivers** عام (١٩٣٧) ، وضع أسس مشابهة لافتراضات كوخ ، يمكن تطبيقها فى حالة الفيروسات ، وهى

١ - يجب أن يوجد الفيروس المعين دائما فى خلايا العائل ، أثناء المرض ، معطيا نفس الأعراض فى جميع الحالات .

٢ - راشح الأنسجة المصابة (أى الخالى من البكتريا والكائنات الأخرى القابلة للزرع فى بيئة معملية) ، يسبب نفس المرض فى حيوانات التجارب .

٣ - الراشح المأخوذ من أنسجة حيوان التجارب المصاب ، ينقل نفس المرض لحيوان تجارب اخر .

الميكروبيولوجيا الطبية

خلال الفترة من أعوام (١٨٨٠ الى ١٩٢٠) ، والتى تعتبر العصر الذهبى للميكروبيولوجيا الطبية ، مكنت الأسس التى وضعها باستير وكوخ ، الكثير من معاصريهم وماتلاهم من علماء ، من التعرف على كثير من الميكروبات المسببة للأمراض (أنظر جدول ١-١) ، ومن معرفة المواد القاتلة للميكروبات (مثل حامض الكربوليك بواسطة **ليستر Lister** عام ١٨٦٠) ، وطرق منع التلوث وتعقيم الأدوات الجراحية ، والتشخيص السيرولوجى ، الذى يمتاز بدقته وسرعته ، لبعض الميكروبات المرضية (مثل اختبار فيدال للتيفود ، واختبار وازرمان للزهرى) ، ومن اكتشاف طرق التحصين باستخدام لقاحات الميكروبات الموهنة ، وبإنتاج مضادات التوكسين Antitoxin ضد السموم الميكروبية ، واستخدام المركبات الكيميائية والمضادات الحيوية فى العلاج ... كل ذلك فتح آفاقا عريضة أمام الميكروبيولوجيا الطبية ، للأجيال القادمة .

جدول ١-١ : اكتشاف بعض الميكروبات المسببة للأمراض .

المكتشف	المسبب (*) Causative agent	Disease المرض	التاريخ
Koch	*Bacillus anthracis*	Anthrax الجمرة الخبيثة	١٨٧٦
Neisser	*Neisseria gonorrhoeae*	Genorrhea السيلان	١٨٧٩
Eberth	*Salmonella typhi*	Typhoid fever التيفود	١٨٨٠
Laveran	*Plasmodium malariae*	Malaria الملاريا	١٨٨٠
Ogston	*Staphylococcus aureus*	تلوث الجروح	١٨٨١
Koch	*Mycobacterium tuberculosis*	Tuberculosis السل	١٨٨٢
Koch	*Vibrio cholerae*	Cholera الكوليرا	١٨٨٣
Klebs & Loeffler	*Corynebacterium diphtheriae*	Diphtheria الدفتريا	١٨٨٣
Nicolaier	*Clostridium tetani*	Tetanus التيتانوس	١٨٨٥
Weichslbaum	*Neisseria meningitidis*	Meningitis الالتهاب السحائى	١٨٨٧
Bruce	*Brucella* spp.	Malta fever الحمى المالطية	١٨٨٧
Welch & Nuttall	*Clostridium perfringens*	Gas gangarene غرغرينا غازية	١٨٩٢
Yersin & Kitasato	*Yersinia pestis*	Plague الطاعون	١٨٩٤
Van Ermengem	*Clostridium botulinum*	Botulism التسمم البوتشولينى	١٨٩٦
Bang	*Brucella abortus*	الإجهاض المعدى للأبقار Bovine abortion	١٨٩٧
Shiga	*Shigella dysenteriae*	Dysentery الدوسنتاريا (الزحار)	١٨٩٨
Schaudin & Hoffmann	*Treponema pallidum*	Syphilis الزهرى	١٩٠٥
Bordet & Gengou	*Bordetella pertussis*	Whooping cough السعال الديكى	١٩٠٦
Ricketts	*Rickettsia rickettsii*	حمى جبال روكى المبقعة Rocky mountain spotted fever	١٩٠٩

(*) الاسم الحالى للمسبب ، الذى فى كثير من الأحوال يختلف عن الاسم الأصلى الذى عرف به لأول مرة .

ويوضح الجدول التالى (١-٢) ، الأحداث التاريخية الهامة ، التى أدت الى تطور علم الميكروبيولوجى .

جدول ١-٢: الترتيب الزمنى للأحداث الهامة فى تاريخ علم الميكروبيولوجى .

الفترة الزمنية	الباحث	أهم الاضافات
١٦٠٠-١٧٠٠	Antony van Leeuwenhoek (1632-1723)	أول من لاحظ وسجل بدقة الكائنات الدقيقة .
١٧٠٠-١٨٠٠	Lazaro Spallanzani (1729-1799)	أجرى تجارب لاثبات عدم صحة نظرية التوالد الذاتى
١٨٠٠-١٩٠٠	Ignaz P. Semmelweis (1818 - 1865)	ادخل طرق منع التلوث
	John Tyndall (1820-1893)	اكشف الجراثيم Spores ، وطريقة التعقيم المتقطع Tyndallization للتخلص منها
	Louis Pasteur (1822-1895)	أثبت نهائياً عدم صحة نظرية التوالد الذاتى ، وأثبت أن التغيرات الكيميائية بالتخمرات سببها ميكروبى وإكتشف الكثير من الميكروبات المسببة للأمراض ، ووضع أسس علم التحصين ، واكتشف لقاحات بعض الأمراض .
	Joseph Lister (1827-1912)	طور من طرق منع التلوث وتعقيم الأدوات الجراحية
	Thomas J. Burrill (1839-1916)	اكتشف البكتريا الممرضة للنبات
	Robert Koch (1843-1910)	اكتشف طرق الحصـــول على مزارع نقيـــة ، والطرق المعملية لفحص البكتريا ، وافتراضات كوخ ، واكتشف مسبب السل والكوليرا والجمره الخبيثة
	Fanny Hesse (1850-1934)	أول من استعملت الأجار لتصليب البيئات
	Paul Ehrlich (1854-1915)	وضع أسس العلاج الكيميائى للأمراض
	Martinus W. Beijerinck (1851 – 1931)	وضع أسس مزارع الاكثار ، واكتشف بكتريا الأزوتوباكتر
	Hans Christian Gram (1853 – 1933)	وضع أسس الصبغ التفريقى بين الميكروبات (صبغة جرام)
	Sergei N. Winogradsky (1856 – 1953)	اكتشف البكتريا المثبتة للنتروجين بالتربة
	Dmitrii Iwanowski (1864 – 1920)	اكتشف الفيروسات النباتية
	August von Wassermann (1866 – 1925)	اكتشف اختبار المثبت المكمل لمرض الزهرى
	Frederick W. Twort (1877 – 1950) & Felix H. d'Herelle (1873 – 1949)	اكتشفا البكتريوفاج

الميكروبيولوجيا الزراعية والصناعية

أنفتح مجال الدراسة فى ميكروبيولوجيا الأراضى ، عندما أوضح العالم الروسى فينوجرادسكى (١٨٥٦ - ١٩٥٣) **Sergei Winogradsky** (شكل ١-٦) قدرة بكتريا التربة على تثبيت النتروجين من الجو ، ومدى أهمية ذلك للنبات . كما اكتشف فينوجرادسكى البكتريا الأوتوتروفية وماتلعبه من دور فى أكسدة الأمونيا إلى نترات ، والكبريت الى كبريتات .

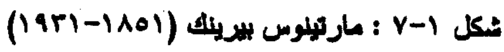
وفى عام (١٨٨٨) ، بين العالمان **Hellriegel & Wilfarth** علاقة تبادل المنفعة التكافلية Symbiosis ، بين البكتريا المثبتة للنتروجين والنباتات البقولية مثل البرسيم . وفى عام (١٩٠١) اكتشف العالم الهولندى بيرينك (١٨٥١ - ١٩٣١) **Martinus Willem Beijernick** ، (شكل ١-٧) البكتريا المثبتة لنتروجين الهواء الجوى فى الحالة الحرة (الأزوتوباكتر) ، وأوضح أهميتها فى زيادة خصوبة الأراضى . ويرجع الفضل لفينوجرادسكى وبيرينك ، فى عمل مزارع الاكثار Enrichment cultures ، التى تسمح بنمو نوع معين من الميكروبات وسيادته على الأنواع الأخرى الموجودة بالمزرعة .

وفى أواخر القرن التاسع عشر ، فتح العالم الأمريكى باريل (١٨٣٩ - ١٩١٦) **Thomas J. Burrill** ، مجالا جديدا فى الميكروبيولوجى ، هو مجال علم الأمراض النباتية Plant Pathology ، وذلك إثر اكتشافه لبعض الأمراض فى أشجار الكمثرى تسببه البكتريا . كما إكتشف العالم الروسى ايفانوفسكى (١٨٦٤ - ١٩٢٠) **Dmitrii Iwanowski** ، دور الفيروسات فى الأمراض النباتية . وفى عام(١٩١٥) اكتشف العالمان **Twort & d'Herelle** فيروس البكتريا (البكتريوفاج) . وقد عزل **Stanley & Northrup** فيروس موزايك الدخان ، بحالة نقية عام (١٩٣٥) .



شكل ١-٦ : سيرجى فينوجرادسكى (١٨٥٦-١٩٥٣)





شكل ١-٧ : مارتيلوس بيرينك (١٨٥١-١٩٣١)

الميكروبيولوجيا والبيولوجيا الجزيئية

أدى التطور المذهل فى السنوات الأخيرة ، للطرق المعملية والتجريبية ، إلـــى توفـر معلومات غزيرة عن النشاط البيوكيميائى للميكروبات ، وبالتالى إلى زيادة كبيرة فيمـــا نعرفـه عن خصائص الميكروبات ومميزاتها . فلقد اتضح وجود الكثير من الخصائص المشتركة بيـــن الكائنات الدقيقة ، كما اتضح أن الاختلافات بينها تعود أساسا إلى تباين فـــى بعـض الـــدورات البيوكيميائية Biochemical pathways ، وفى نفس الوقت ، فقد أخذت معلوماتنا تزداد عـــن الأسس المشتركة التى تربط بين أساليب الحياة البيوكيميائية Biochemical life processes ، بين الكائنات الدقيقة والكائنات الأكثر رقيا بما فيها الانسان ، ومن ثم فقد أصبح من المغــــرى ، استخدام الميكروبات كوسيلة لاستطلاع الأسس المجهولة المتعلقة بالحياة .

وفى هذا النوع من الدراسات ، توفر الميكروبات مميزات عديدة ، فتركيبـــها الخلـوى بسيط ، ومادتها الوراثية غير معقدة التركيب ، كما أنها سريعة التكاثر ، وتنموا بيسر وســـهولة بكميات صغيرة أو كبيرة ، ويمكن التعامل مع النمو المتكون بوسائل فيزيائية أو كيميائية ، كمـــا يمكن تكسير خلاياها وفصل مكوناتها الى أجزاء ذات أحجام مختلفة .

هذه المميزات العديدة ، تجعل من الميكروبات نماذج Models بحثيه مناسبة تمامـــا ، لمعرفـــة كيف تتم دورات الحياة المختلفة Life processes ، بكل دقة ، على أســـاس مـــن التفـــاعلات الكيميائية المحددة ، والتركيبات المعينة الداخلة فى هذه التفاعلات .

وعلى ذلك ، فلم يكن من المســـتغرب ، أن يتعـــاون المتخصصـــون فـــى الفيزيـــاء ، والكيمياء ، والوراثة ، والبيولوجى مع الميكروبيولوجيين ، فى وضع أساس مانعرفه الآن بأســم علم البيولوجيا الجزيئية Molecular Biology ، وقد أدت نتائج الدراسة فى هذا المجال ، التى بدأها كـــل مـــن **Beadle & Tatum** (١٩٤١) ، و **Delbruck & Luria** (١٩٤٣) ، و **McLead & Mc Carty** (١٩٤٤) ، إلى اسهامات عديـــدة ، تتعلـــق بايضـــاح تركيـــب الإنزيمات وطريقة عملهـــا ، ونظـــم التنظيـــم الخلوى ، والأيض الغذائـــى المنتج أو المســـتهلك للطاقـــة ، وبناء البروتين ، وتركيب الفيروسات ، وعمل الأغشية الخلوية ، وتركيـــب وعمـــل الأحماض النووية خاصة حامض الدنا DNA . وقد أمكن الحصول ، على معظـــم المعلومـــات الأساسية الخاصة بحامض الدنا ، وبالاساليب الوراثيـــة Genetic processes ، مـــن خـــلال الدراسات التى تمت على البكتريا والبكتريوفاج .

الميكروبيولوجيا والمجتمع

لاحظنا مما سبق ، أن علم الميكروبيولوجى نمى نموا سريعا ابتداء من منتصف القـــرن التاسع عشر ، وأن البدايات الأولى كانت مثيرة حقا . وبحلول القرن العشرين ، أصبـــح رجـــل الشارع على معرفة بالميكروبات ، وأصبح يعى تماما بما تستطيع أن تقوم بـــه هـــذه الكائنـــات المجهرية ، وكيف يمكنه الســـيطرة عليـــها ، وبدخولنـــا الألفيـــة الثالثـــة ، فقـــد احتـــل علـــم الميكروبيولوجى مكانا بارزا بين العلوم ، التى تلعب دورها المؤثر فى حياة المجتمع .

فالدور الذى تلعبه الميكروبيولوجيا فى حياتنا ، وفى المجتمع من حولنا ، أصبح فى تزايد مستمر ، إذ أخذعلم الميكروبيولوجى يسهم بالكثير فى علوم الحياة الأساسية ، وفى النواحى التطبيقية المختلفة ، سواء من الناحية الطبية ، أو الزراعية ، أو الصناعية ، أو من حيث العلوم البيئية .

ولعل التطور الخطير حاليا فى الميكروبيولوجيا التطبيقية ، هو القدرة على تغيير التركيب الوراثى لكائن ما ، وهو مايعرف بالهندسة الوراثية Genetic Engineering . فالمعلومات المتعمقة التى أصبحت متوفرة عن تركيب ووظيفة حامض الدنا النووى ، وعن انزيمات قطع وإعادة بناء الجزىء ، جعلت من الممكن تغيير تركيب دنا الميكروب ، بإدخال جزء من دنا جديد إلى دنا الميكروب ، فيما يعرف باسم التجميع الوراثى Recombination ، وبهذه الطريقة يمكن إعادة هندسة الميكروب جينيا ، بإحداث تغييرات فى تركيب حامضه النووى الدنا ، لانتاج مواد جديدة تفيد الانسان ، مثل الأنسيولين ، والانترفيرون Interferon . وبذلك يمكن للميكروبات التى أجريت بها عملية الهندسة الوراثية ، أن تؤدى خدمات جليلة لانتاج عقاقير طبية ولقاحات ، وفى تحسين المحاصيل الزراعية .

مراجع الباب الأول References

Brock, T. (ed.) (1961). Milestones in Microbiology. Printice-Hall. Englewood Cliffs. N.J.

Bulloch, W. (1938). The History of Bacteriology, Oxford, London.

Dobell, C. (1960). Antony van Leeuwenhoek and His Little Animals. Dover. New York.

Dubos, R.J. (1950). Louis Pasteur, Free Lance of Science. Little Brown, Boston.

Lechevalier, H. and M. Solotorovsky (1965). Three Centuries of Microbiology. Mc Graw-Hill Book Co., Inc., New York.

National Academy of Sciences (1991). Microbial Processes. National Academy of Sciences, Washington D.C.

﴿الباب الثانى﴾

موقع الميكروبات بين الأحياء

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة

(الباب الثانى)

موقع الميكروبات بين الأحياء
Place of Microorganisms in the Living World

الميكروبيولوجيا ومنشأ الحياة Microbiology and Origin of Life

منذ بداية عصور الحضارة منذ حوالى ٨٠٠٠ سنه ، اهتم الانسان باستطلاع ماحوله من مظاهر الطبيعة المختلفة ، وطبيعة ونشأة الحياة ، ثم بتوالى العصور ، وضعت تفسيرات عديدة توضح كيف بدأت الحياة على الأرض . أحد هذه التفسيرات المقبولة الآن ، تفترض بأن الحياة بدأت فى مياه البحر ، وذلك بعد ملايين السنين من عمليات التطور الكيميائى Chemical evolution .

وطبقا لهذه الفرضية ، فإن العناصر غير العضوية الموجودة فى الجو (ك ، ن ، يد٢ ، أ٢ ، فو ... الخ) ، تحت تأثير الأشعة فوق البنفسجية ، والشحنات الكهربائية ، والحرارة المرتفعة ، تفاعلت فيما بينها ، وكونت مركباتاً غير عضوية (ك أ ، ك أ٢ ، ن يد٣ ، يد٢ كب ، ...) ، ثم تداخلت هذه المركبات وكونت مركباتاً عضوية بسيطة (ثيويوريا ، كحولات ، الدهيدات ...) ترسبت فى مياه البحر .

ثم بتوالى تأثير الظروف الفيزيائية ، فإن المركبات العضوية ، اتحدت لتكون سكريات خماسية ، وأحماض أمينية ، وقواعد نتروجينية ، ثم مركبات أخرى معقدة من السكريات والبروتينات والدهون والأحماض النووية والإنزيمات ، وبذلك تشكلت المواد الأساسية لتكوين البداية الأولى للمادة الحية ، التى بدأت - كما تدل الكثير من الشواهد - منذ أكثر من ثلاثة آلاف مليون سنه ، لتبدأ بعدها عمليات التطور البيولوجى للحياة Biological evolution .

ويوضح الجدول (٢-١) التطور الكيميائى والبيولوجى ، وبدء الحياة الميكروبية .

التطور البيولوجى للكائنات بدائية النواه

الآثار الحفرية الخاصة بالكائنات الدقيقة فى عصر ماقبل الكمبرى * ، نادره ، ويعود ذلك الى صغر حجم هذه الكائنات ، وعدم إحتوائها على مكونات صلبة . وعلى ذلك ، فإن الحفريات الدالة على أشكال الحياة البدائية الأولى ، لاتوجد إلا تحت ظروف خاصة . وقد أمكن العثور على أقدم آثار للحياة ، فى آثار حفرية تدل على وجود بكتريا ، وكائنات شبيهة

---

* عصر ماقبل الكمبرى Precambrian age ، هو أحد عصور حقبة الدهر العتيق Archeozoic era ، وقد استمر عصر ماقبل الكمبرى حوالى ٤ مليار سنة وانتهى قبل حوالى ٦٠٠ مليون سنة من الوقت الحاضر وتلاه عصر الكمبرى . وفى عصر ماقبل الكمبرى ظهرت بوادر الحياة المعروفة ، منذ حوالى ٣,٥ مليار سنة التى تطورت إلى صورة كائنات بسيطة ، وحيدة الخلية ، تسبح فى المياه .

جدول ٢-١ : المقياس الزمنى للتطور الكيميائى والبيولوجى وتطور الحياة الميكروبية .

ملايين السنين التى مضت	الحقبة الجيولوجية	الزمن التقريبى للمنشأ	مراحل التطور
	Cenozoic	الإنسان *Homo sapiens*	البيولوجى
	Mesozoic	الثدييات والطيور والزواحف	
	Paleozoic	النباتات الأرضية	
	Proterozoic	الأسماك واللافقاريات الكائنات عديدة الخلايا خلايا حقيقية النواه	
١٠٠٠		البكتريا الهوائية	
٢٠٠٠	Archeozoic	بكتريا منتجة للأكسجين / البكتريا اللاهوائية (خلايا بدائية النواه)	
٣٠٠٠		الحفريات الأولى التى تحمل شواهد الحياه	
٤٠٠٠		٤- الخلايا الحية الأولى ٣- خلايا بدائية: أغشية تحيط بتركيبات أولية من الأحماض النووية . ٢- تجمع الجزئيات ١- الحساء العضوى: تمثيل الأحماض الأمينية والببتيدات والسكريات	الكيميائى

From Pelczar M.J.Jr and E.C.S. Chan (1981). Elements of Microbiology. McGraw-Hill Book Co. Inc., New York

بالبكتريا ، بولاية منيسوتا ، وبجنوب أفريقيا ، فى رواسب بصخور يرجع عمرها إلـــى حوالـــى ٣٠٠٠ مليون سنة مضت ، مما يبين أن الحياة ظهرت قبل هذا التـــاريخ . ويمكـــن إعتبـــار أن البكتريا اللاهوائية، والبكتريا الممثلة للضوء ، من الشواهد الحية الباقيـــة ، التـــى تـــدل علـــى التطورات المبكرة ، التى حدثت بالكائنات الحية .

ويعود التطور الكبير فى الكائنات بدائية النواه ، وفى نظم أيضها الغذائى ، إلى تركيبها الخلوى البسيط ، وصغر حجم خلاياها ، وسرعة نموها ، وتنوع نظم التحكم فـــى إنزيماتـــها ، وتعدد طرق أنتقال الجينات بينها ، وصغر حجم الجينوم وتركيبه الهابلويد .

وفى بداية نشأة الحياة ، فى العصور السحيقة من عمر الأرض منذ أكثر مـــن ٣٠٠٠ مليون سنه ، كان الجو المختزل هو السائد ، [(النتروجين فى صورة أمونيا ن يد٣ ، والاكسجين فى صورة ماء (يد٢ا) ، والكربون فى صورة غاز الميثان (ك يد٤)] ، فظهرت فى المياه البكتريـا التى تملك نظم الايض اللاهوائى ، مثل البكتريا اللاهوائيـــة المخمـــرة ، مثـــل *Bacteroides,* *Ruminococcus* ، ثم ظهرت البكتريا اللاهوائيـــة المختزلـــة ، مثـــل *Methanobacterium,* *Desulfovibrio* ، التى تستطيع أن تستخدم موادا مثل ك أ٢ ، كب أ٤ لاستقبال الإلكترونات .

وبتطور عملية الفسفرة الضوئية منذ حوالى ٢٠٠٠ مليون ســـنه ، ظـــهرت البكتريـــا الممثلة للضوء ، المحتوية على الصبغات الضوئية وعلى النظام الضوئى رقم ١ ، الذى يمكنـــها من إستخدام الضوء كمصدر للطاقة ، واستخدام يد٢ كب كمانح للإلكـــترونات ، مثـــل بكتريـــا *Rhodospirillum* الممثلة للمواد العضوية ، وبكتريا *Chromatium* المثبته لـــ ك أ٢ الجو .

وبتوالى التطور ، وتكون النظام الضوئى رقم ٢ ، ظهرت السيانوبكتريا ، التى تستطيع أن تثبت ك أ٢ الجو ، وتستخدم الماء بدلا من يد٢ كب كمانح للإلكترونات ، وينتج عن تمثيلـــها الاكسجين ، وبذلك ظهرت البكتريا الممثلة للضوء ، المنتجة للأكسجين .

وبتكون الأكسجين ، بدأ حدوث تحول تدريجى فى جو الأرض المخـــتزل الـــى جـــو يحتوى على أكسجين ، وأصبحت موادا كالنتروجين والأكسجين توجد فى صورة عناصر غازيـــة (ن٢ ، أ٢) ، والكربون فى صورة ك أ٢ ، ويعتبر ذلك التحول من أكثر العوامل تـــأثيرا علـــى تطور الكائنات . فظهرت الكائنات الهوائيـــة المحتوية على السيتوكروم والسيتوكروم أكسـيديز ، الذى يمكنها من استعمال أكسجين الهواء الجوى كمستقبل للإلكترونـــات مثـــل *Pseudomonas* (شكل ٢-١) .

تطور بدائيات النواة	تطور طرق الأيض الغذائى
بكتريا هوائية (لاتحتوى على ميتوكوندريا) Aerobic respiring bacteria (*Pseudomonas*) (Without Mitochondria) (من ١٥٠٠ مليون سنه)	السيتوكروم والأكسيديز ، كمستقبل نهائى لأكسجين الهواء الجوى
↑ (ب)	
بكتريا خضراء مزرقة Cyanobacteria (*Oscillatoria*) (Without chloroplast)	النظام الضوئى رقم ٢
↑ (أ)	
بكتريا ضوئية ، ممثلة للمواد المعدنية Photo-litho-autotrophs (*Chromatium*)	تثبيت ك أ٢ عن طريق Ribulose diphosphate carboxylase
↑	
بكتريا ضوئية ، ممثلة للمواد العضوية Photo-organo-heterotrophs (*Rhodospirillum*)	استخدام الطاقة الضوئية بواسطة كلوروفيل بكتيرى والنظام الضوئى رقم ١
↑	
بكتريا لاهوائية مختزلة Anaerobic respiring bacteria (*Desulfovibrio*)	استخدام كب أ٤ كمستقبل للالكترونات عن طريق سلسلة ناقلة للالكترونات (سيتوكروم)
↑	
بكتريا لاهوائية ، مخمرة Anaerobic fermenting bacteria (*Bacteroides*)	الحصول على الطاقة من فسفرة مواد التفاعل ، ودورتى فركتوز ثنائى الفوسفات وفوسفات البنتوز
↑	
بدء الحياة منذ أكثر من ٣٠٠٠ مليون سنة	

شكل ٢-١ : مراحل افتراضية لتطور طرق الأيض الغذائى بالكائنات بدائية النواه ، مع أسماء بكتريا ممثلة لكل مرحلة .

From : Frobisher M. (1974).
Fundamentals of Microbiology, 8th Ed., Saunders Co., London.

وبتكون كميات كافية من أكسجين الهواء الجوى (منذ حوالى ألف مليون سنه) ، بـدأت تظهر ، وتتطور الكائنات حقيقية النواه ، وتطور جهاز التمثيل الكلوروفيللى ، وانتشرت النباتـات الأرضية الخضراء الممثلة للضوء المنتجة للأكسجين وإزدادت نسبة الاكسجين بالهواء الجـوى ، إلى أن وصلت الى معدلها الطبيعى وهو حوالى ٢٠% .

نماذج تطور الكائنات

تحتوى الصخور الرسوبية التى رسبت فى قاع البحر ، عبر زمن سـحيق بعـد نشـأة الحياة ، آثارا نادرة للحفريات Fossils ، وهو السجل الكامل المستمر لنشوء الحياة . ويوضـح الشكل (٢ - ٢ أ ، ٢ب) بعض نماذج لتطور الحياة عبر الأحقاب والعصور الجيولوجية .

المميزات العامة للأحياء

الميكروبات (بكتريا ، فطـر ، طحـالب ، بروتـوزوا) ، كائنـات وحيـدة الخليـة Unicellular ، وفى هذه الخلية تتم كل عمليات الحياة المتعلقة بالكائن . وفى الكائنـات الأكـثر رقيـا ، فإن الكائـن يتكون ن خلايـا عديدة Multicellular ، مرتبـة فى أنسجـة وأعضـاء متخصصة ، لتقوم بوظائف محددة . وعلى الرغم من تعقد تركيب الكائنات ، فإن الخلية ، هـى الوحدة الأساسية المكونة للحياة . وفى هذا الأساس ، تتشابه جميع الكائنات الحية (شكل ٢-٣) .

وتتكون خلية أى كائن حى ، من البروتوبلازم Protoplasm ، الذى يمثل المادة الحيـة بالخلية ، وهو نظام غروى عضوى معقد ، يتكون أساسا من البروتين والدهون والفوسـفوليبيدات والأحماض النووية ، ويحاط البروتوبلازم بأغشية أو جدار خلوى . وتقوم خلايا جميع الكائنـات الحية ، بعمليات البناء والهدم وإنتاج الطاقة ، من خلال دورات الأيـض الغذائـى Metabolic pathways ، التى تتشابه فى أسسها ، وإن كانت تتباين فى بعض مساراتها من كائن لآخر .

عموما ، فان جميع الأنظمة الحية ، تجمعها الخصائص الأساسية التالية

١ - القدرة على النمو والتكاثر .
٢ - القدرة على تمثيل المواد الغذائية وانتاج الطاقة .
٣ - القدرة على إخراج المواد التالفة .
٤ - القدرة على التفاعل مع تغيرات الوسـط ، وهـى مايسـمى بالتأثريـه Irritability ، أى الاستجابة لتأثير منبهات الوسط .
٥ - القابلية لظاهرة التطفر Mutation .

ويتضمن عالم الميكروبات ، مجموعة الفيروسات . وتقع الفيروسات على حدود الحياة، إذ تربط الفجوة بين الأحياء وغير الأحياء ، فالفيروس له صفاته الفريدة الخاصة به التى تجمـع بين المادة غير الحية (خارج العائل) ، وبين الكائنات الحية (داخل العائل) .

فالفيروسات متطفلة إجبارا Obligate parasite ، وتركيبها غير خلوى Acellular ، يتكون مـن الأحماض النووية والبروتين ، وهذه مواد توجد أيضا فى كل صور الحياة الميكروبية والنباتيـة والحيوانية .

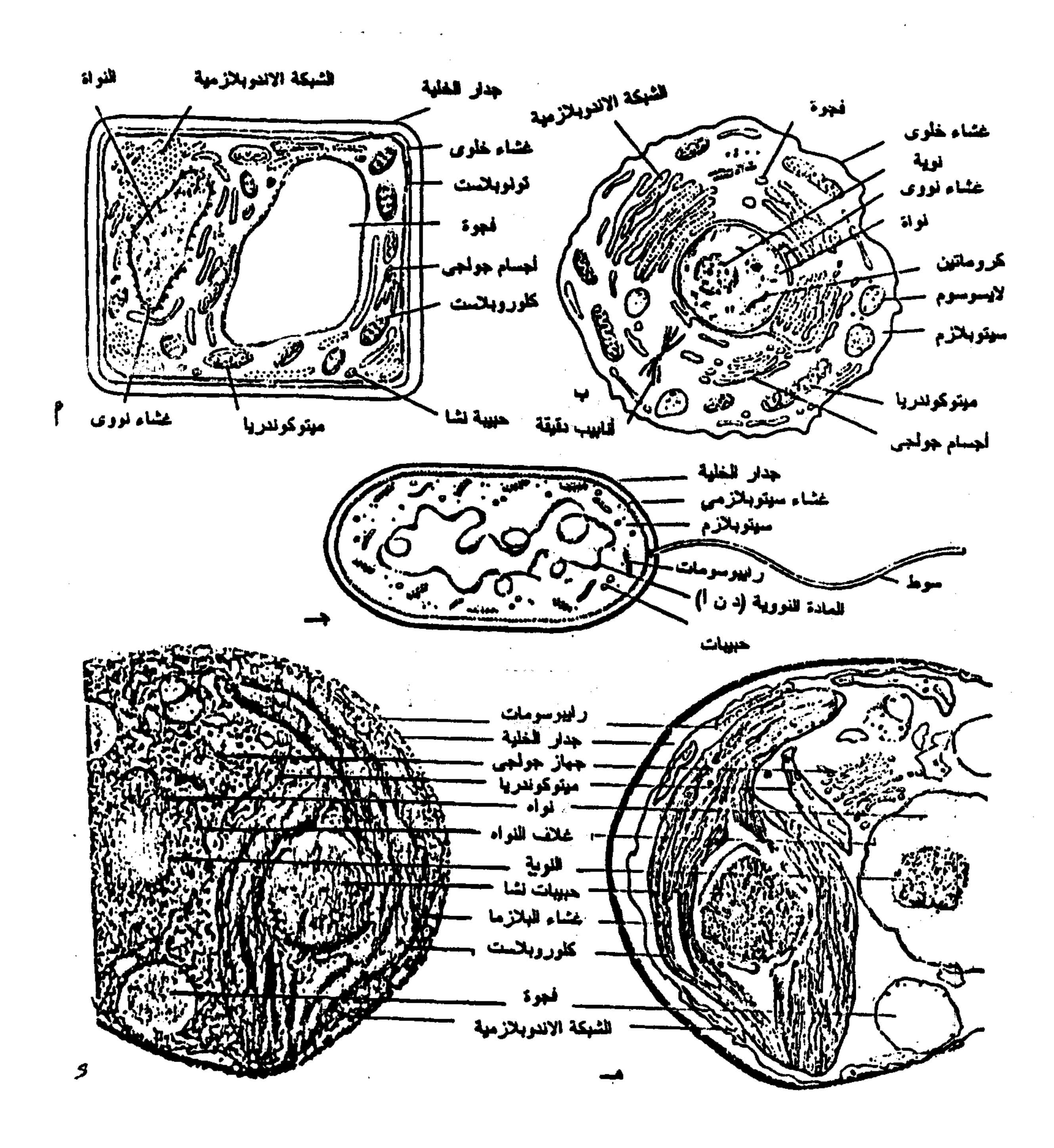
الحقبة والعصر الجيولوجي (مدة الحقبة بالسنة)	السنوات التي مرت منذ بدأ العصر الجيولوجي
حقبة الحياة الحديثة (عصر الثدييات) **Cenozoic era** (٧٠ مليون سنه)	عصر الفضاء Space age الانسان الحديث *Homo sapiens* (٢٠ ألف سنه)
العصر الحجرى - الانسان	٥٠٠ ألف سنه
عصر البليستوسين (الجليدى) Pleistocene epoch	١ مليون سنه
عصر البليوسين (الانسان الأول) Pliocene	١١ مليون سنة
عصر الميوسين Miocene	٢٥ مليون سنة
عصر الأوليجوسين Oligocene	٤٠ مليون سنة
عصر البليوسين Paleocene	٧٠ مليون سنة
حقبة الحياة الوسيطة (عصر الزواحف) **Mesozoic era** (١٥٥ مليون سنة)	مليون سنة
العصر الكريتاسى (الطباشيرى) Cretaceous	١٣٥
العصر الجوراسى Jurassic	١٨٠
العصر الترياسى Triassic	٢٢٥
حقبة الحياة القديمة **Paleozoic era** (٣٧٥ مليون سنة)	
العصر البرمى .... Permian	٢٧٠
العصر الكربونى ... Carboniferous	٣١٠
العصر الديفونى......... Devonian	٣٧٥
العصر السيلورى.......... Silurian	٤٢٥
العصر الأوردوفيشى .. Ordovician	٤٧٥
العصر الكمبرى .... Cambrian	٦٠٠
عصر ماقبل الكمبرى (من الدهر العتيق) **Precambrian of Archeozoic**	٤٠٠٠
أقدم الصخور المسجله للحياة	٣٠٠٠ مليون سنه

شكل ٢-١٢أ : مقياس الزمن الجيولوجي ، الذى يبين (مع الشكل ٢-٢ ب) منشا البكتريا القديم والميكروبات الأخرى ، عند قاعدة مقياس التطور (عصر ماقبل الكمبرى) .



أقدم حفرية عمرها حوالى ٣ مليار سنة

شكل ٢-٢ب : نماذج لكائنات تبين تتابع التطور فى صور الحياة عبر الأحقاب والعصور الجيولوجية



شكل ٢-٣ : الشكل العام لخلية نموذجية

أ – خلية نباتية
ب – خلية حيوانية
حـ – خلية بكتيرية
د – خلية طحلب *Chlamydomonas reinhardii* × ١٢٠٠٠
هـ – رسم تخطيطى لنفس خلية الطحلب

موقع الميكروبات بين الكائنات الحية *

حتى منتصف القرن التاسع عشر ، كانت كل الكائنات الحية ، تقسم إلى مملكتين : نباتية وحيوانية . وذلك على أساس الفروق الواضحة بين أفراد المملكتين ، من حيث الشكل والتركيب وطريقة التغذية . ومن حيث الصفة الأخيرة ، فان الحيوانات غير ذاتية التغذية ، تتغذى على المواد العضوية المعقدة ، بطريقة الابتلاع والهضم Phagotrophs . أما النباتات ، فهى ذاتية التغذية ، تتغذى على مواد بسيطة بطريقة الامتصاص Absorption ، وتأخذ الكربون اللازم لخلاياها من الجو ، وتستخدم الضوء كمصدر للطاقة بواسطة ماتحتويه من صبغات ممتصة للضوء .

ونظرا لأن الميكروبات متباينة الصفات ، منها مايتشابه مع النبات ، ومنها مايتشابه مع الحيوان ، ومنها مايجمع بين صفات النبات والحيوان ، ومنها مايختلف فى صفاته تماما عن النبات أو الحيوان ، فقد اقترح العالم الألمانى Haeckel (١٨٦٦) ، إنشاء مملكة ثالثة ، هى مملكة الكائنات الأولية البروتستا Protista ، تضم الكائنات وحيدة الخلايا . البكتريا ، الفطر ، الطحالب ، البروتوزوا ، حيث تمثل البكتريا البروتستا الدنيئة Lower protista ، بينما تمثل الفطريات والطحالب والبروتوزوا ، البروتستا الراقية Higher Protista . أما الفيروسات ، فلم توضع فى هذا التقسيم ، وذلك لتركيبها غير الخلوى ، ولعدم قدرتها على التكاثر خارج الخلايا الحية (جدول ٢-٢) .

جدول ٢-٢ : الأقسام الرئيسية للكائنات ذات التركيب الخلوى .

الصفة المميزة لأقسام الكائنات		نبات Plantae	حيوان Animalia
حقيقية النواة Eucaryotes	عديدة الخلايا تخصص الخلايا والانسجة	البذرية السرخسية الحزازية	فقاريات لافقاريات
	وحيدة الخلايا ، أو عديدة الخلايا بدون تخصص	كائنات بدائية راقية Higher Protista بروتوزوا طحالب فطريات	
بدائية النواة Procaryotes	وحيدة الخلايا	كائنات بدائية دنيئة Lower Protista البكتريا	

* أنظر موضع البكتريا بين عالم الأحياء والمجموعات الرئيسية لبدائيات النواة ، بالفصل الأول من الباب السابع ، ص ٣٥٢ ومايليها .

وبتجميع معلومات كافية ، عن التركيب الداخلى للخلية بواسطة المجهر الالكترونى ، ابتداء من عام ١٩٥٠ ، فقد لوحظ أن المادة النووية فى خلايا البكتريا ، لاتحاط بغشاء نووى ، وسميت بالكائنات بدائية النواه Procaryotes ، بينما فى الكائنات الأخرى ، كالفطريات والطحالب والبروتوزوا ، وكذلك الخلايا النباتية والحيوانية ، فإن نواة الخلية تحاط بغشاء نووى، وسميت بالكائنات حقيقية النواة Eucaryotes (جدول ٢-٢) . وقد أدى ذلك الاكتشاف ، الى معرفة فروق أخرى أساسية ، فى التركيب الداخلى بين نوعى الخلايا (جدول ٢-٣) .

وطبقا للمرجع العالمى ، الأساسى فى تقسيم البكتريا Bergey's Manual of Systematic Bacteriology ، والذى صدر فى أربع مجلدات ابتداء من عام ١٩٨٤ حتى عام ١٩٨٩ ، فقد وضعت البكتريا فى مملكة بدائية النواة Kingdom Procaryota . وقسمت هذه المملكة إلى أربعة أقسام رئيسية هى :

١ - البكتريا العادية السالبة لصبغة جرام Ordinary Gram-negative bacteria
٢ - البكتريا العادية الموجبة لصبغة جرام Ordinary Gram-positive bacteria
٣ - بكتريا ذات صفات غير عادية Bacteria with unusual properties
٤ - بكتريا موجبة لصبغة جرام ، خيطية ، ذات تركيب مورفولوجى معقد Gram-positive filamentous bacteria of complex morphology

وستذكر التفاصيل الخاصة بأقسام وأوصاف المجموعات البكتيرية ، فى الفصل الثانى من الباب السابع بهذا الكتاب .

ويوجد نظم للتقسيم ، خاصة بكل مجموعة من مجاميع الكائنات المجهرية الأخرى ، من فطريات وطحالب وبروتوزوا ، كما يجرى حاليا وضع نظام عالمى لتسمية وتقسيم الفيروسات .

المجاميع الرئيسية للميكروبات

المجاميع الرئيسية للميكروبات ، التى يتناولها علم الميكروبيولوجى Microbiology هى الفيروسات ، البكتريا ، الفطر ، الطحالب ، البروتوزوا . ويدرس المتخصصون كل مجموعة ميكروبية فى علم مستقل ، هو علم الفيرولوجى Virology ، علم البكتريولوجى Bacteriology ، علم الفطر Mycology ، علم الطحالب Phycology ، علم البروتوزوا Protozoology .

ويبين شكل (٢-٤) الأشكال المورفولوجية للمجاميع الميكروبية .

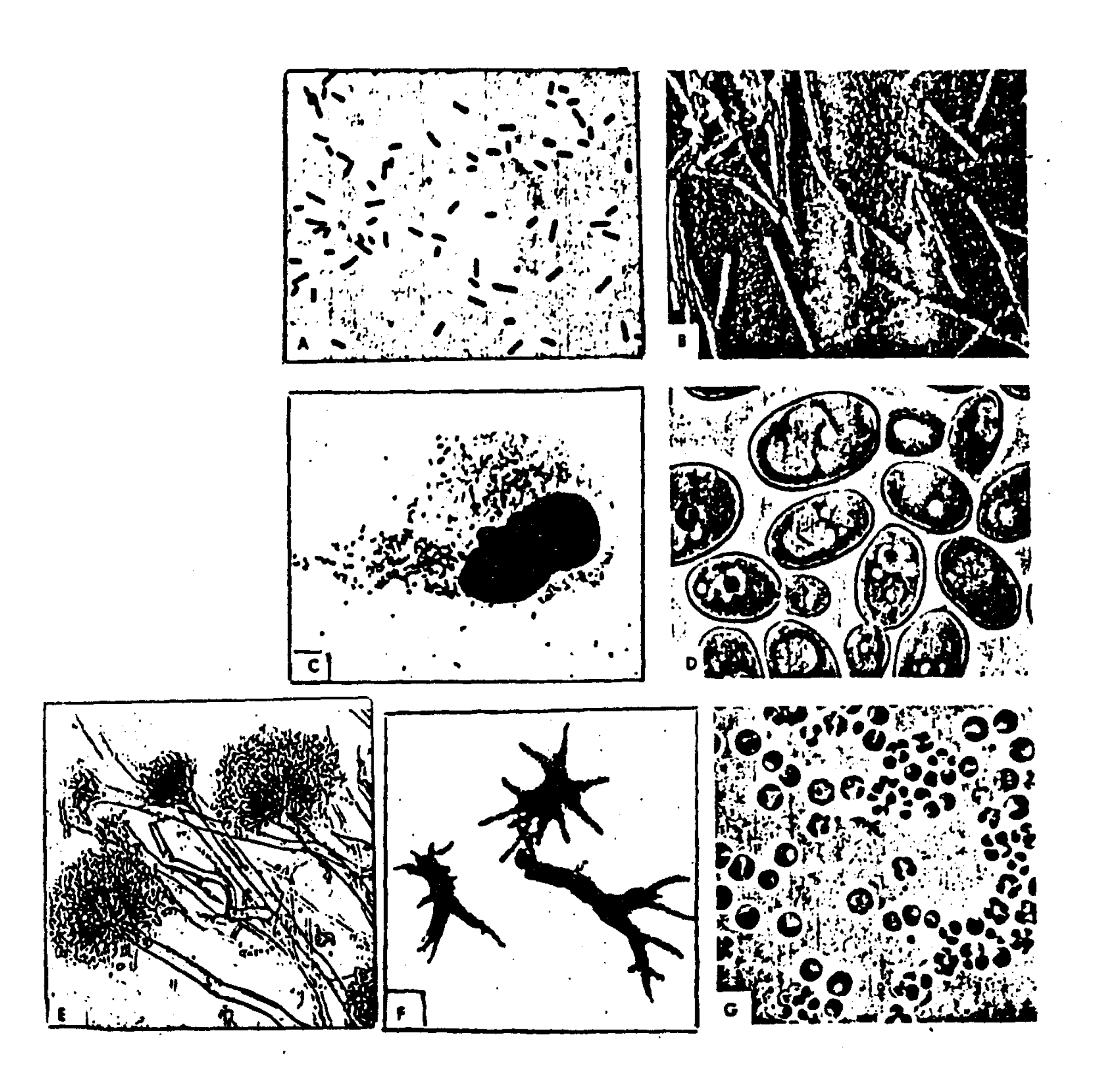
جدول ٢-٣ : الفروق المميزة بين خلايا بدائية النواة وحقيقية النواة .

الكائن	خلايا بدائية النواة	خلايا حقيقية النواة
	البكتريا	الطحالب ، الفطريات ، البروتوزوا ، النبات ، الحيوان
الحجم	١-٢ × ١-٤ µm أو أقل	القطر أكبر من ٥,٠ µm
أعضاء الحركة	لويفة بسيطة	ألياف عديدة ذات (٩ + ٢) من الانابيب الدقيقة
الأقدام الكاذبة	لايوجد	توجد فى البعض
١- التركيبات الخارجية للخلية		
جدار الخلية	به ببتيدوجلوكان	لايحتوى على ببتيدوجلوكان
الغشاء السيتوبلازمى	لايحتوى على استيرولات يحتوى على انزيمات التنفس ، وصبغات ضوئية فى البعض	به استيرولات لايحتوى على انزيمات تنفس أو صبغات ضوئية
السيتوبلازم : طبيعته وتركيبه		
الحركة السيتوبلازمية	لايوجد	يوجد
الارتشاف Pinocytosis	لايوجد	يوجد
الميسوسوم	موجود	لايوجد
الرايبوسومات	موزعة فى السيتوبلازم من نوع S٧٠*	توجد فى الشبكة الاندوبلازمية من نوع S٨٠*
الميتوكوندريا	لايوجد	يوجد
الكلوروبلاست	لايوجد	قد يوجد
أجسام جولجى	لايوجد	يوجد
الشبكة الاندوبلازمية	لايوجد	يوجد
فجوات محاطة بأغشية حقيقية	لايوجد	يوجد
فجوات غازية	قد توجد	لايوجد

* S تشير الى وحدات سفدبرج Svedberg ، معامل ترسيب الحبيبات فى جهاز الطرد المركزى فائق السرعة وانظر الرايبوسومات ووحدة سفدبرج بالفصل الثانى من الباب الخامس ، ص ٢٥٠ .

تابع جدول ٢-٣ :

	خلايا بدائية النواة	خلايا حقيقية النواة
الكائن	البكتريا	الطحــــالب ، الفطريــــات ، البروتوزوا ، النبات ، الحيوان
نظم التمثيل الغذائى	- تختلف كثيرا خاصة فــى دورات انتاج الطاقة اللاهوائية - البعض يثبت N_2 الغازى البعض يخزن مادة Poly-β hydroxy-butyrate كمادة غذائية	تستخدم دورة الانحلال الجليكولى ، لانتاج الطاقة بطريقة لاهوائية
الجهاز الوراثى		
مكان وجوده	النيوكلويد ، الأجسام الكروماتينية أو المادة النووية	النواه ، الميتوكوندريا ، الكلوروبلاست
تركيب النواه	- كروموسوم واحد دائرى - غير محاطه بغشاء نووى - لاتحتوى الكروموسومات على هيستونات - لايوجد أنقسام ميتوزى - لايوجد نوية - قد تتجمع الجينات العاملة فى شكل عنقود	- أكثر من كروموسوم - النواه محاطه بغشاء نووى - تحتوى الكروموسومات على هيستونات - يوجد انقسام ميتوزى للنواه - يوجد نوية - لاتتجمع الجينات العاملة
الانقسام الخلوى	بطريقة الانقسام الثنائى البسيط	ميتوزى
التزاوج الجنسى	الزيجوت Merozygotic أى يحتوى على أجزاء من الجزء الوراثى للخلايا المتحدة ، والزيجوت جزئيا ثنائى المجموعة الكروموسومية	الزيجوت ثنائى المجموعة الكروموسومية
نسبة القواعد النتروجينية فى الدنا ، مول % (جوانين + سيتوزين) (ج + س%)	٢٨ ـ ٧٣	حوالى ٤٠



شكل ٢-٤ : الأشكال المورفولوجية للمجاميع الميكروبية

A - بكتريا *Escherichia coli* × ١٠٠٠

B - فيروس TMV × ١٠٠,٠٠٠

C - ريكتسيا *Rickettsia tsutsugamushi* بسيتوبلازم خلية مصابة × ٩٤٠

D - خميرة *Candida utilis* × ٢٠٠٠

E - فطر *Aspergillus* sp.

F - بروتوزوا *Amoeba*

G - طحلب *Chlorella infusionum* × ١٠٠٠

وفيما يلى المميزات الرئيسية لكل مجموعة ميكروبية

١- الفيروسات : Viruses

تركيبها غير خلوى ، متناهية فى الصغر فلا ترى إلا بالمجهر الإلكترونى ، متطفلة إجبارا فلا تنمو إلا فى الخلايا الحية ، وهى متطفلة أو ممرضة للنبات والحيوان والإنسان والميكروبات .

٢- البكتريا : Bacteria

بدائية النواه (بروكاريوتا) ، وحيدة الخلية ، التكاثر عادة بالانقسام الثنائى البسيط .

٣- الفطر : Fungi

يتبعه الخمائر Yeasts والأعفان Molds .

حقيقية النواه (ايوكاريوتا) ، خالية من الكلوروفيل ، عادة عديدة الخلايا لكن غير مميزة إلى جذور وسوق وأوراق ، تتراوح فى الحجم والشكل من خمائر وحيدة الخلية مجهرية ، الى فطريات عديدة الخلايا كبيرة الحجم كما فى عيش الغراب Mushroom ، وتتكون الفطريات الحقيقية من خيوط وكتل من الخلايا مكونة للميسليوم Mycelium .

وتتكاثر الفطريات بالانقسام الثنائى ، أو بالتبرعم ، أو بالجراثيم المحمولة على تركيبات ثمرية مميزة لأنواع معينة .

٤ - الطحالب : Algae

حقيقية النواة ، تحتوى على كلوروفيل ، لها القدرة على التمثيل الضوئى ، تختلف فى الحجم والتركيب ، فمنها بسيط التركيب وحيد الخلية ، أو عديد الخلايا دون تخصص فى التركيب أو الوظيفة ، ومنها أنواع عملاقة لها تركيب معقد وخلايا متخصصة الوظائف مثل أعشاب البحر البنية Brown Kelp .

توجد الطحالب عادة فى الأوساط المائية والأراضى الغدقة ، وتتكاثر لاجنسيا وجنسيا .

٥ - البروتوزوا : Protozoa

حيوانات دنيئة ، حقيقية النواه ، وحيدة الخلية ، يميز بينها حسب خواصها المورفولوجية والفسيولوجية وطريقة تغذيتها ، وتتكاثر لاجنسيا وجنسيا .

ويبين جدول (٢-٤) بعض مميزات المجاميع الرئيسية الميكروبية .

جدول ٢-٤ : بعض مميزات المجاميع الميكروبية الرئيسية .

المجموعه الميكروبية	الحجم	المميزات الهامة	الاهمية العملية
الفيروسات	من ٠,٠١٥ الى ٠,٢ µm	- تركيبها غير خلوى - لاتنمو على البيئات المعملية الصناعية - تحتاج لخلايا حية لتتكاثر - كلها إجبارية التطفل - لاترى إلا بالمجهر الالكترونى	تسبب أمراضا للميكروبات والنبات والحيوان والانسان
البكتريا	٠,٢ إلى ١٠٠ µm النموذجية من ٠,٥ – ١,٥ × من ١,٠ – ٣,٠ µm	- بدائية النواة - وحيدة الخلايا - تركيبها الداخلى بسيط - تنمو على البيئات المعملية الصناعية - التكاثر أساسا لاجنسى بالانقسام الثنائى البسيط	- تلعب دورا هاما فى دورات العناصر التى تؤثر على خصوبة التربة - هامة صناعيا لانتاج بعض المركبات الهامة - بعضها ينتج الغذاء - بعضها يسبب أمراضا أو فسادا بالأغذية
الخمائر	من ٥ الى ١٠ µm	- حقيقية النواة - وحيدة الخلايا - تنمو على البيئات المعملية الصناعية كالبكتريا - تتكاثر لاجنسيا بانقسام الخلية أو التبرعم ، أو تتكاثر جنسيا	- انتاج الكحول - انتاج المشروبات الكحولية والبيرة - انتاج الغذاء - بعضها يسبب أمراضا أو فسادا بالأغذية
الفطريات	من ٢-١٠ µm إلى عدة ملليمترات	- حقيقية النواة - عديدة الخلايا مع وجود تركيبات مميزة - تنمو معمليا كالبكتريا - تتكاثر لاجنسيا وجنسيا	- انتاج بعض المواد الهامة صناعيا - انتاج البنسلين - تسبب تحللا لكثير من المواد أو فسادا بالأغذية - تسبب أمراضا للنبات والحيوان والانسان
الطحالب	من ١,٠ µm الى عدة أمتار	- حقيقية النواه - وحيدة أو عديدة الخلايا - أغلبها يعيش فى الأوساط المائية - تحتوى على صبغات ضوئية فهى ممثلة للضوء - تتكاثر لاجنسيا وجنسيا	- انتاج الغذاء فى الأوساط المائية - هامة فى التحضيرات الصيدلانيه - انتاج الاجار - بعضها ينتج موادا سامة
البروتوزوا	من ٢ الى ٢٠٠ µm	- حقيقية النواه - وحيدة الخلايا - بعضها ينمو معمليا كالبكتريا - بعضها متطفل داخل الخلايا - تتكاثر لاجنسيا وجنسيا	- غذاء للحيوانات البحرية - بعضها يسبب أمراضا

انتشار الميكروبات فى الطبيعة

تنتشر الميكروبات فى الطبيعة فى كل مكان تقريبا ، فهى توجد فى التربة ، وفى المياه العذبه والمالحة ، وفى أعماق البحار ، ومياه الينابيع الساخنة ، وفى الثلوج القطبية ، كما يحملها الهواء الى طبقات الجو العليا .

وهى أكثر إنتشارا فى الأماكن التى يتوفر فيها الغذاء والرطوبة والحرارة المناسبة لنموها وتكاثرها . ونظرا لأن هذه الظروف ، هى نفسها الظروف التى يعيش تحتها الانسان ، لذلك فاننا نتواجد بين أعداد ضخمة من الميكروبات . فهى توجد فى الهواء الذى نتنفسه ، والغذاء الذى نأكله ، وعلى سطح جسم الانسان والحيوان ، وفى قناته الهضمية . ومن حسن الحظ ، فإن أغلب هذه الميكروبات غير ضارة لنا ، ولدينا الوسائل لمقاومة غزو الأنواع الضارة منها .

أما الأماكن التى لاتتواجد فيها الميكروبات ، فإنها محدودة وهى : الأدوات والأوانى المعقمة ، والأنسجة السليمة ، والمواد القاتلة للميكروبات كالأحماض والقلويات ، وفوهات البراكين النشطه .

المجالات التطبيقية لعلم الميكروبيولوجى

نظرا لوجود الميكروبات بأعداد كبيرة ، فى معظم الأوساط الطبيعة ، فإنها تحدث فى تلك الأوساط الكثير من التغيرات ، كثيرها نافع ، وقليلها ضار . فالنشاط الميكروبى المتسع والمتعدد ، يتراوح من التأثير على خصوبة التربة ، إلى انتاج مواد نافعة ، إلى إحداث أمراض للنبات والحيوان والانسان . لذلك فإننا نجد أن المجالات التطبيقية لعلم الميكروبيولوجى عديدة ، ويوضحها (جدول ٢-٥) .

جدول ٢-٥ : المجالات الرئيسية للميكروبيولوجيا التطبيقية .

المجـــال	التأثير والأهميـــة
- ميكروبيولوجيا الهواء Aeromicrobiology	التلوث - الأمراض المنقوله
- ميكروبيولوجيا الأوساط المائية Aquatic microbiology	توزيع الميكروبات - تحلل المخلفات - دورات العناصر
- ميكروبيولوجيا مياه الشرب ومياه المخلفات Domestic water and waste water microbiology	تنقية المياه - تقدير الصلاحية للشرب - التلوث - الأمراض المنقولة. طرق معالجة مياه المخلفات - انتاج أسمدة وغاز حيوى
- ميكروبيولوجيا الاراضى Soil microbiology	تحلل المخلفات - تثبيت النتروجين - دورات العناصر - التسميد الحيوى - تحلل المبيدات
- ميكروبيولوجيا الأغذية Food microbiology	التلوث - الفساد - الحفظ - انتاج أغذية - التسمم - الأمراض المنقولة .
- ميكروبيولوجيا الألبان Dairy microbiology	المحتوى الميكروبى - التلوث - الفحص الميكروبيولوجى - طرق الحفظ - المنتجات اللبنية - الأمراض المنقولة
- ميكروبيولوجيا صناعية Industrial microbiology	انتاج كحولات ، أحماض عضوية ، مذيبات ، مشروبات ، مضادات حيوية ، ولقاحات
- ميكروبيولوجيا صيدلية Pharmaceutical microbiology	تلوث المنتجات الصيدلية - الفساد - الحفظ - انتاج مواد صيدلية كالمضادات
- امراض النبات Plant Pathology	طرق الانتشار - الأمراض التى تصيب النبات - طرق المقاومة
- أمراض الحيوان الميكروبية Microbial animal diseases	مسببات الأمراض - الأمراض - طرق الوقاية
- ميكروبيولوجيا طبية Medical microbiology	الميكروبات المسببة للأمراض - طرق التشخيص البيولوجى - الأمراض - الوقاية
- ميكروبيولوجيا الفضاء Exo microbiology	استكشاف الحياة فى الفضاء الخارجى

References **مراجع الباب الثانى**

Alcamo, I.E. (2001) Fundamentals of Microbiology. Jones & Bartlett, London.

Delauney, A. and H. Erni (eds.) (1965). The World of Microbes,Doubleday, Garden City, New York.

Edmonds, P. (1978). Microbiology, An Environmental Prospective. Macmillan, New York.

Jennings, R.K. and R.F. Acker (1970). The Protistan Kingdom. Van Nostrand Reinhold, New York.

Pelczar, M.J.Jr.; E.C.S. Chan and N.R. Krieg (1999). Microbiology,. Mc Graw-Hill Book Co. Inc., New York.

Postgate, J. (1975). Microbes and Man. Penguin, Baltimore, USA.

(الباب الثالث)

طرق فحص ودراسة الميكروبات

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة

«الباب الثالث»

طرق فحص ودراسة الميكروبات
Microbial Studying Methods

الميكروبات كائنات دقيقة ، لاترى بالعين المجردة ، وحتى نتمكن من رؤيتها وفحص تركيباتها الداخلية ، فإننا نستخدم المجهر (الميكروسكوب) Microscope الذى يعطى التكبير الكافى لتسهيل الرؤية وإجراء عمليات الفحص ، وقد يستلزم ذلك أيضا ، صبغ الأغشية الميكروبية Staining of smears ، كما تنمى الميكروبات فى بيئات مناسبة Media ، لدراستها تحت الظروف المعملية ، مع إجراء عمليات التعقيم المناسبة .

وسنقوم فى هذا الباب ، بشرح الأسس العامة لطرق فحص ودراسة الميكروبات ، دون الدخول فى تفاصيل الخطوات العملية ، التى يمكن الرجوع إليها فى الكتب الخاصة بالطرق العملية .

المجاهر (الميكروسكوبات)

المجهر ، هو الأداة المميزة لأى معمل ميكروبيولوجى ، فالمجهر بما يعطيه من تكبير للمرئى ، يمكننا من رؤية وفحص الميكروبات . والمجاهر ، من حيث الأساس فى عملية التكبير نوعان : ضوئية Light, Optical ، والكترونية Electron.

وفى حالة المجاهر الضوئية Light microscopes ، فإننا نحصل على التكبير ، بواسطة مجموعة من العدسات Lenses ، التى تستخدم الموجات الضوئية Light waves . وتتضمن المجاهر الضوئية

١ - مجهر المجال المضىء (الفاتح) Bright-field
٢ - مجهر المجال المظلم (الداكن) Dark-field
٣- المجهر الفلوروسنتى Fluorescent
٤- مجهر متباين الأطوار الضوئى Phase-contrast

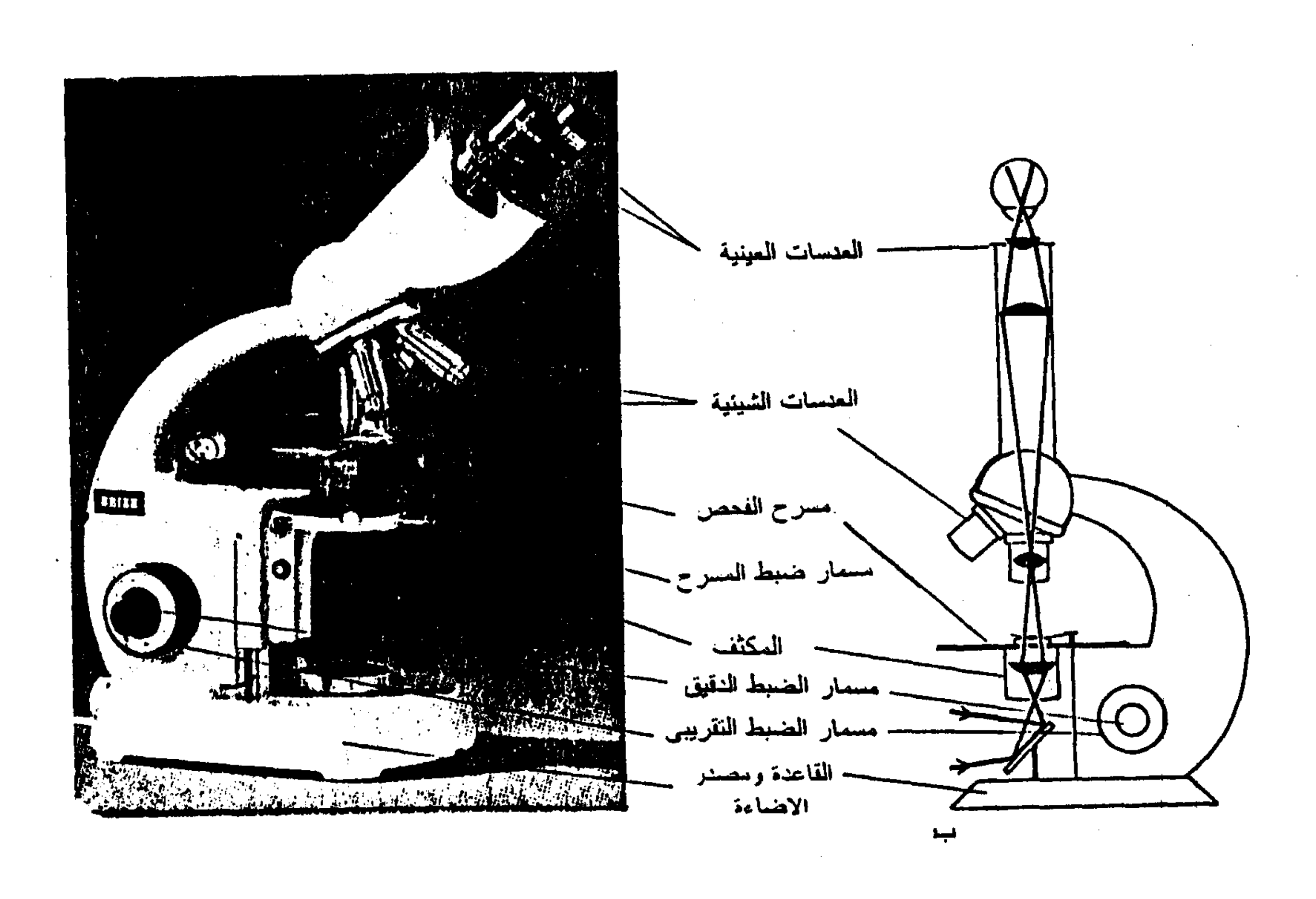
أما فى حالة المجهر الإلكترونى Electron microscope ، فإننا نستعمل شعاعا من الالكترونات Beam of electrons ، بدلا من الموجات الضوئية ، لاظهار الصورة . ويكون الفحص من خلال استعمال المجهر النافذ Transmission ، أو المجهر الماسح Scanning .

وتتم أغلب الدراسات العادية ، بواسطة مجهر المجال المضىء ، فهو أكثر الأنواع استعمالا فى العمل الروتينى . وتستعمل أنواع المجاهر الأخرى ، فى الدراسات البحثية ، ولأهداف محددة .

مجهر المجال المضىء : Bright-field microscope

يكون مجال الفحص بهذا المجهر مضيئاً لامعاً ، أما الميكروبات فإنها تظهر داكنة ، لأنها تمتص جزءاً من الضوء المار . وبصبغ الميكروبات فإن امتصاصها للضوء يزيد ، كما يزداد درجة تباينها مع الوسط . ويوضح الشكل (٣-١) الأجزاء البصرية لمجهر المجال المضىء ، ومسار الأشعة الخاصة بتكبير المرئى (الشيء المفحوص) Object .

وغالباً فإن هذا النوع من المجاهر ، يعطى تكبيراً يتراوح مابين ١٠٠٠ الى ٢٠٠٠ ، وعند زيادة التكبير عن ذلك ، فان تفاصيل الصورة تصبح غير واضحة .



شكل ٣-١ : مجهر المجال المضىء (المجهر المركب) ، مجهر الطالب

أ - الأجزاء المختلفة للمجهر

ب - مسار الضوء بالمجهر

التكبير : Magnification

تزود المجاهر المعملية عادة ، بثلاث عدسات شيئية Objectives ، ذات قوة تكبير وأبعاد بؤرية مختلفة ، وهى الصغرى Low-power ، والكبرى High-power ، والزيتية Oil-immersion . وقوة تكبير كل عدسة شيئية ، محفورة على حاملها المعدنى ، وهى عادة ×١٠ للصغرى ، ×٤٠ للكبرى ، ×١٠٠ للزيتية ، وأبعادها البؤرية على الترتيب هى ١٦ ، ٤ ، ٢ مم تقريبا . وعادة مايستعمل بالمجهر ، عدسة عينية Eye-piece lens ذات قوة تكبير ×١٠ ، وإن كان يوجد عدسات عينية ، ذات قوة تكبير أصغر أو أكبر من ذلك .

وقوة التكبير النهائية للمجهر ، هى عبارة عن حاصل ضرب قوة تكبير الشيئية المستعملة أثناء الفحص × قوة تكبير العينية المستعملة معها .

القدرة التوضيحية : Resolving power

إن مجرد زيادة حجم الصورة (زيادة التكبير) ، دون توفر القدرة على تمييز التفاصيل الدقيقة للصورة (زيادة الايضاح) . يجعل الفحص غير مجديا ، لأن تفاصيل الصورة المتكونة ستكون غير واضحة . وعلى ذلك ، يحد من زيادة قوة التكبير بالمجهر ، قدرته على الايضاح أى قدرته التوضيحية .

والقدرة التوضيحية هى عبارة عن القدرة على توضيح تفاصيل نقطتين شديدتى القرب ، وذلك بشكل واضح ومفصل ، وليس كجسم واحد غير واضح التفاصيل .

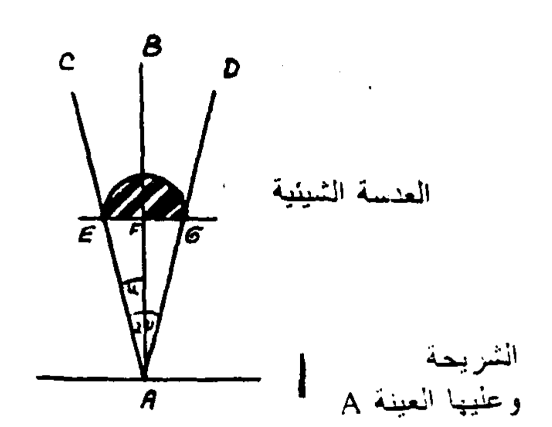
وتعتمد القدرة التوضيحية للمجهر (d) ، على طول موجة الضوء المستعمل فى الفحص (λ) ، وقيمة الفتحة الرقمية Numerical aperture (NA) للعدسة الشيئية المستعملة، وذلك حسب المعادلة

$$\text{القدرة التوضيحية ، } d = \frac{\text{نصف طول الموجه } (\lambda)}{\text{الفتحة الرقمية } (NA)} = \frac{0.5\,\lambda}{n \sin \alpha} \quad \text{حيث}$$

n = معامل انكسار الوسط بين المرئى والسطح الأمامى للعدسة الشيئية ، فقد يكون الوسط هواءا أو ماءا أو زيت غمس ... الخ .

α = نصف زاوية العدسة الشيئية ، أى نصف الزاوية المحصورة بين الشعاعين الضوئيين الطرفيين ، مبتدئين من منتصف المرئى ، الممتدين الى عين الفاحص أى الزاوية û (أنظر شكل ٣-٢) .

شكل ٣-٢ : الفتحة الرقمية



A-C,B,D : الأشعة الضوئية الماره من العينة الى العدسة الشيئية ، الى عين الفاحص

EFG : قطر العدسة الشيئية

EF أو FG : نصف قطر العدسة

Û : نصف زاوية العدسة الشيئية

FA : البعد البؤرى للعدسة الشيئية

وحيث أن الفتحة الرقمية (NA) للعدسة = n X sin α

أى أن NA = جا $\dfrac{\text{نصف قطر العدسة الشيئية EF} \times \text{معامل انكسار الوسط}}{\text{البعد البؤرى للعدسة الشيئية FA}}$

∴ NA تعبر عن خواص العدسة الشيئية المستعملة ، لأن NA هى محصلة العلاقة بين قطر العدسة ، وبعدها البؤرى ، ومعامل انكسار الوسط ، وهذه العلاقة هى التى تؤدى الى وضوح الصورة ، والتفرقة بين أجزائها المختلفة .

فى حالة العدسات الشيئية الجافة ، فإن معامل انكسار الوسط (n) ، وهو الهواء = ١ . وعند استعمال العدسات الزيتية فإن (n) = ١.٥ ، وهو معامل إنكسار زيت السيدر Cedar oil. ونظريا ، عندما تكون العدسة الشيئية ملامسة للمرئى ، فان α أى الزاوية µ = ٩٠° ، وتصبح حا α = ١ .

وبالتعويض فى المعادلة $n \sin \alpha = NA$ ، فإن أكبر قيمة لـ NA فى حالة العدسة الجافة = ١ × ١ = ١ ، وعمليا فإنها تساوى ٠,٩٥ ، وفى حالة العدسة الزيتية ، فإن NA = ١ × ١,٥ = ١,٥ ، وعمليا فإنها تساوى حوالى ١,٣ .

كلما صغر حجم التركيب المطلوب رؤية تفاصيله ، تطلب ذلك توفير قدرة توضيحية أكبر للمجهر ، وتزداد القدرة التوضيحية (d) للمجهر ، كلما قصر طول الموجه المستعملة فى الفحص ، وكلما زادت الفتحة الرقمية للعدسة الشيئية للمجهر ، وذلك حسب المعادلة

$$d = 0.5\,\lambda + N.A$$

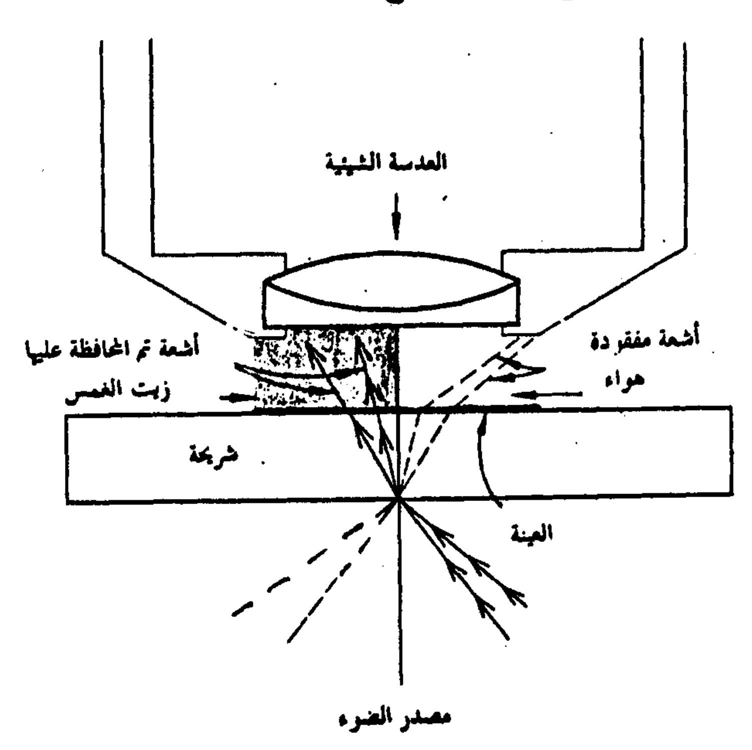
وطول الموجه الضوئية المستخدمة فى المجهر الضوئى ، محدودة ، وهى تتراوح مابين ٤٠٠٠ انجستروم (الضوء الأزرق) ، إلى ٨٠٠٠ انجستروم (الضوء الأحمر) .

وحيث أن أقصر طول موجي مرئي يمكن استعماله هو حوالى ٤٢٦ nm ، وأكبر فتحة رقمية يمكن الحصول عليها هي حوالى ١,٣ ، فإن أقصى قدرة توضيحية للمجهر ستكون محدودة بهذين العاملين ، وتحت أحسن الظروف ، فإن أصغر تركيب مرئي يمكن رؤية تفاصيله بوضوح = ٢١٣nm ÷ ١,٣ = حوالى ٢٠٠ µm أى ٠,٢ µm . وفى عبارة أخرى ، إذا اقتربت نقطتين من بعضهما ، لمسافة أقل من ٢٠٠ nm ، فإنه لايمكن رؤيتهما بوضوح كنقطتين منفصلتين .

العدسة الزيتية : Oil-immersion lens

وجد أن توسط نقطة زيت السيدر ، بين العدسة الشيئية والشريحة الزجاجية التى عليها المرئى ، يزيد من كمية الضوء النافذ من المكثف الى الشيئية ، وذلك يزيد من وضوح الرؤية (شكل ٣-٣) .

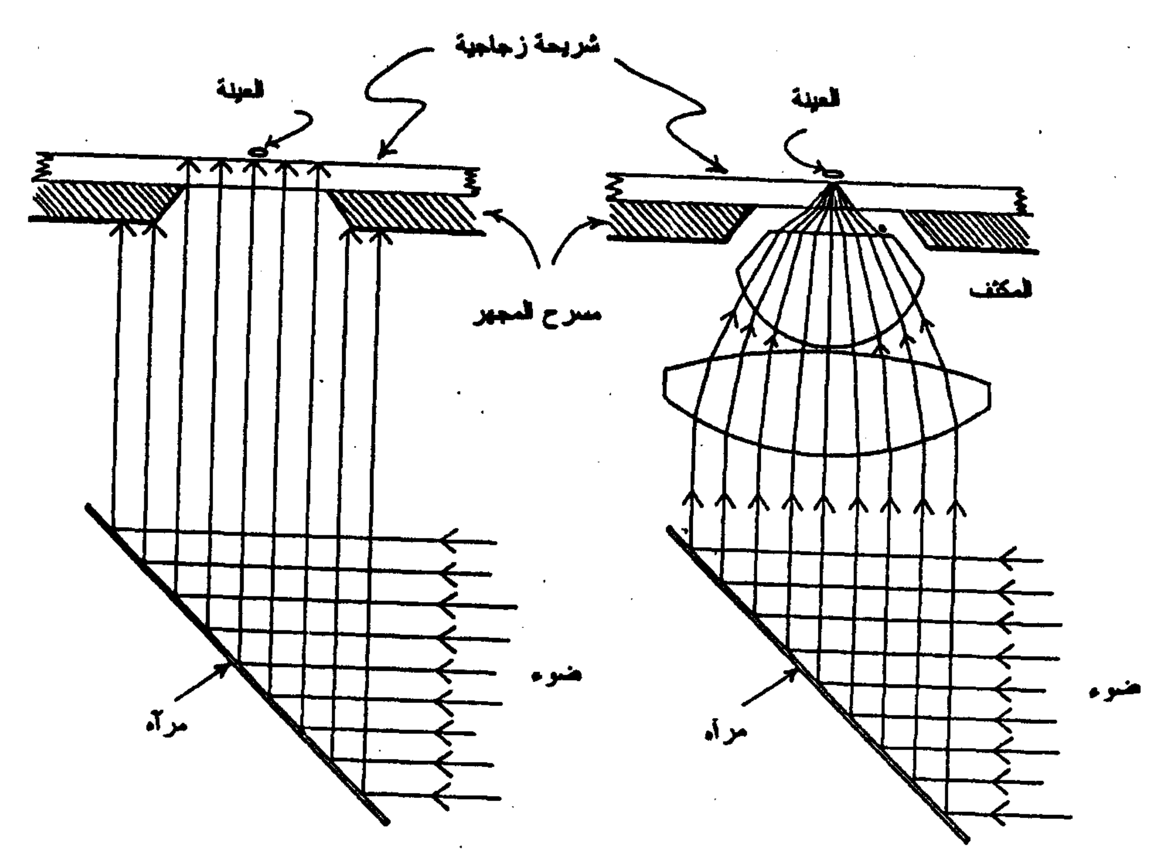
فالكثير من الأشعة التى تتكسر من المرئى على الشريحة الزجاجية ، لاتصل للعدسة الزيتية ، لأن معامل انكسار الوسط بين الشريحة والعدسة ، وهو الهواء (=١) ، أقل من معامل انكسار زجاج الشريحة (١,٥) . ولكن بوضع زيت الغمس Immersion oil وهو له نفس معامل إنكسار الزجاج بين الشريحة والعدسة الشيئية الزيتية ، فإننا نقلل كثيرا من إنكسار الأشعة ، وبذلك فإن نسبة أكبر من الأشعة المارة من المرئى ، ستصل مباشرة الى الشيئية ، مما يزيد من كمية الضوء النافذ ، فيؤدى الى زيادة وضوح الصورة .



شكل ٣-٣ : كيف تزيد العدسة المنغمسة فى الزيت كمية الإضاءة المارة من العينة الى العدسة الشيئية.

الاضاءة : Illumination

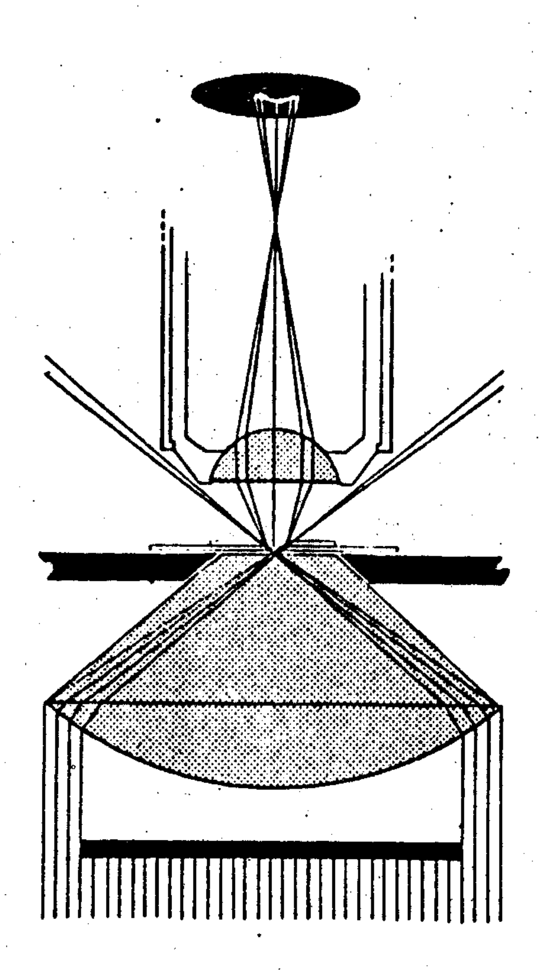
تعتبر الإضاءة المناسبة ضرورية ، للانتفاع الأمثل بقوة التكبير والتوضيح للمجـــــهر . إن أيسر مصدر للاضاءة هو ضوء النهار ، ولكن نظراً لأن شدة ضوء النهار تختلف كثـــيراً ، فإنه عادة ماتستعمل مصادر الضوء الصناعى (غالبا لمبة تنجستين) . وتمتاز مثل هذه المصادر، بأنه يمكن التحكم فى لونها ، وشدتها ، وحجم الحزم الضوئية الصادرة منـــها . وبعـــد خـــروج الضوء من مصدره ، ينعكس على مرآه Mirror ، ثم يمر إلى المكثـــف Condenser ، الـــذى يركز الأشعة على المرئى (شكل ٣-٤) .



شكل (٣-٤) : إضاءة العينة المفحوصة بالمجهر ، فى وجود وعدم وجود مكثف .
المكثف يوجه جميع الضوء المنعكس من المرآة ، إلى العينة

مجهر المجال المظلم : Dark-field microscope .

فى هذا المجهر ، فإن مجال الفحص يكون مظلما ، بينما تبدو الأشياء المفحوصة مضيئة لامعة . ويتم ذلك بتزويد المجهر الضوئى ، بمكثفات خاصة ، تعطى إضاءة حلقية Annular ، وتكوّن مخروطا أجوفا Hollow cone of light من الضوء الصادر من مصدر الاضاءة ، (شكل ٣-٥) .

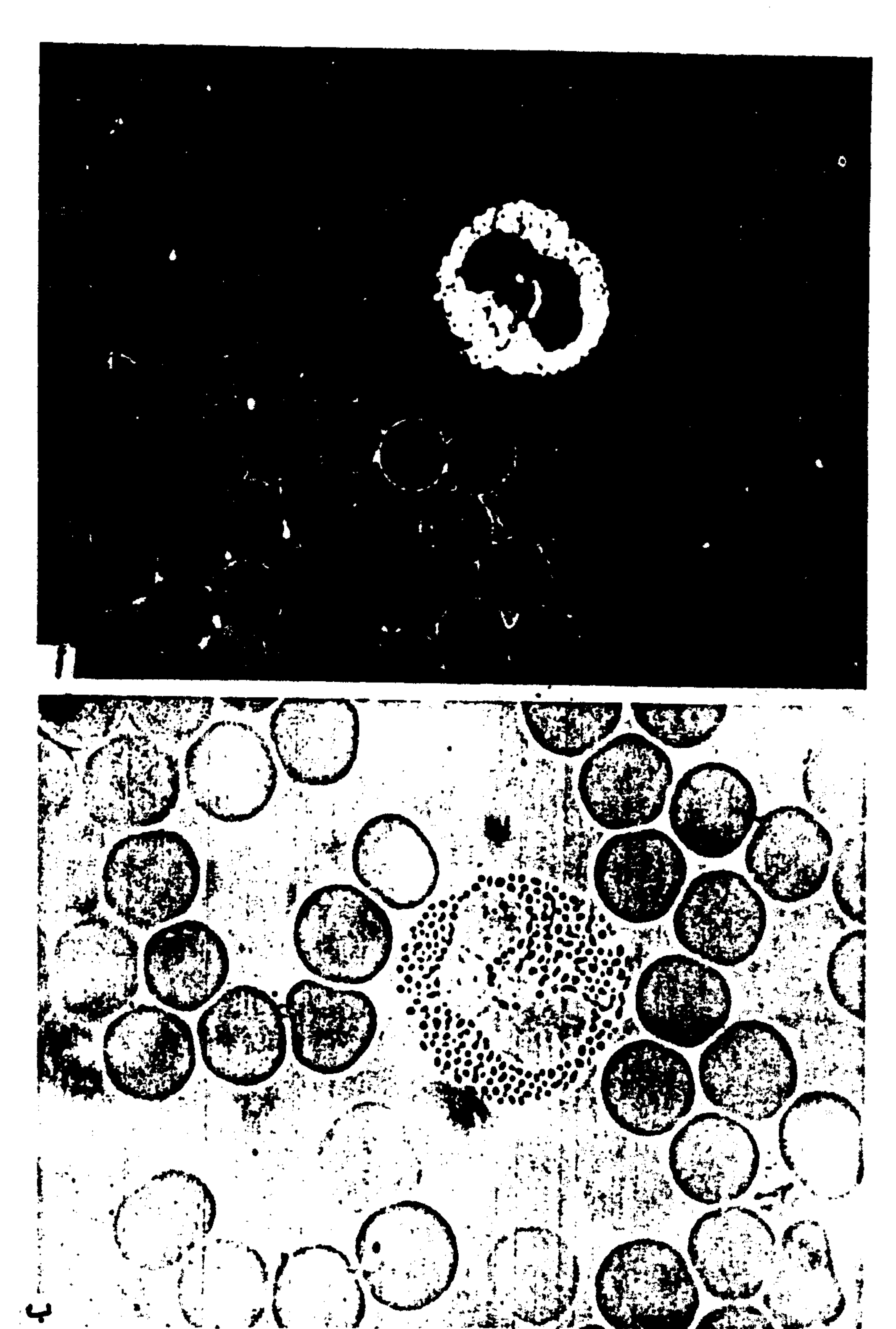


شكل (٣-٥) : مسار الضوء فى مجهر المجال المظلم.

لاحظ أن الموجات الضوئية التى تصطدم بالعينة ، هى التى تنحنى فقط تجاه عين الفاحص

معظم الضوء المار من خلال المكثف ، سيتشتت Diffracted ، ولايدخل العدسة الشيئية ، فيبدو مجال الفحص مظلما . فإذا احتوى الوسط المنفذ على خلايا ميكروبية ، فإن بعض الأشعة المشتتة ، ستصطدم بالخلايا ، وتنعكس منها إلى الشيئية ، وتصل الى عين الفاحص . وبذلك يبدو الشيء المفحوص مضيئا لامعا ، بينما يبقى المجال مظلما (شكل ٣-٦) .

يصلح هذا المجهر أساسا ، فى فحص الخلايا غير المصبوغة بالتحضيرات المبتلة ، وفى فحص الحركة بالنقطة المعلقة ، وفى بعض النواحى الطبية ، كما فى تشخيص مسبب مرض الزهرى ، الذى تصعب رؤيته بالمجهر العادى .



شكل ٣-٦ : مظهر كرات الدم البيضاء محاطة بكرات دم حمراء ، عند الرؤية فى :
أ - مجهر المجال المظلم
ب - مجهر المجال المضىء

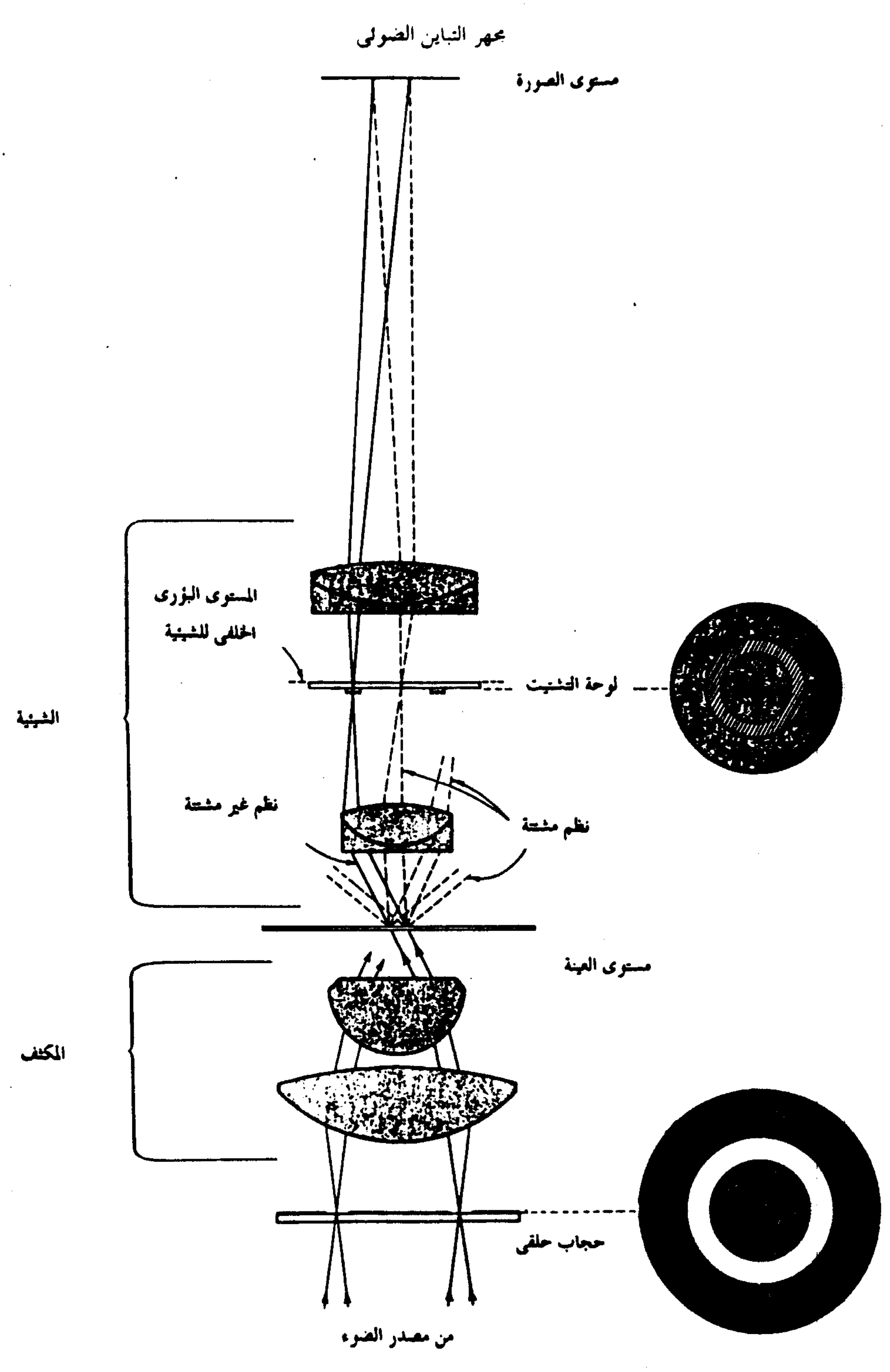
المجهر متباين الأطوار الضوئى : Phase-contrast microscope

الأساس الذى يعتمد عليه هذا المجهر ، هو وجود فروق- ولو طفيفة - فى معامل انكسار الضوء ، تحدث نتيجة مروره فى مكونات الخلية الميكروبية ومحتوياتها والوسط المحيط بها . هذه الفروق ، تؤدى الى تأخير موجات الضوء ، أو تغير من اتجاهها ، مسببة تباينا فى أطوار Contrast of phases الموجات الضوئية المارة . ويعمل مجهر متباين الأطوار الضوئى على تقوية هذه الاختلافات ، وتحويلها إلى اختلافات فى شدة الإضاءة ، مما يزيد التباين بين مكونات الخلية ، ومحتوياتها ، والوسط المحيط ، فيسهل دراستها بحالتها الحية .

يوجد فى هذا المجهر الضوئى ، مكثفات خاصة ذات حجاب حلقى Annular diaphragm ، وله أيضا لوحة تشتيت Diffraction plate . وللمجهر نظامين للتباين :

التباين الفاتح Bright contrast ، وفى هذا النظام تظهر الصورة فاتحة على خلفية داكنة ، **والتباين الداكن Dark contrast** ، حيث تظهر الصورة داكنة عن الوسط المحيط بها .

والذى يحدد نوع ودرجة التباين ، هو نوع وتركيب لوحة التشتيت المستعملة ، من حيث المواد التى تمتص ، أو التى تؤخر الضوء المار من العينة المفحوصة (شكل ٣-٧) .

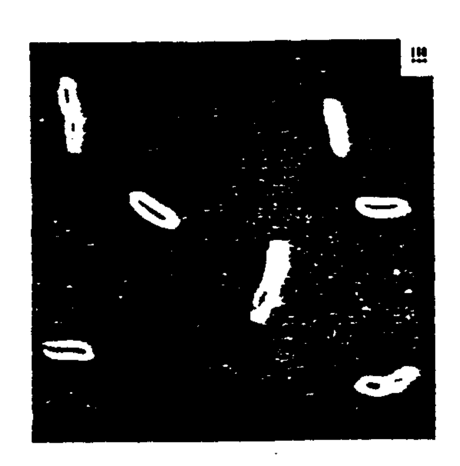


شكل ٣-٧ : تكون الصورة بالتباين الضوئى .

يستعمل هذا المجهر ، لدراسة الخلايا الحية غير المصبوغة ، فبواسطته يسهل دراسة التركيبات الخلوية ، وملاحظة الاختلافات بين الخلايا المختلفة (شكل ٣-٨) .







شكل ٣-٨ : مظهر خلايا حية غير مصبوغة عصوية لبكتريا *Pseudomonas fluorescens* عند رؤيتها بواسطة :

i - مجهر المجال المضيء (تظهر الخلايالكن غير مميزة)
ii - المجهر المتباين الأطوار الضوئى (تظهر الخلايا بوضوح)
iii - مجهر المجال المظلم (تظهر الخلايا بوضوح)

المجهر الفلوروسنتى : Fluorescent microscope

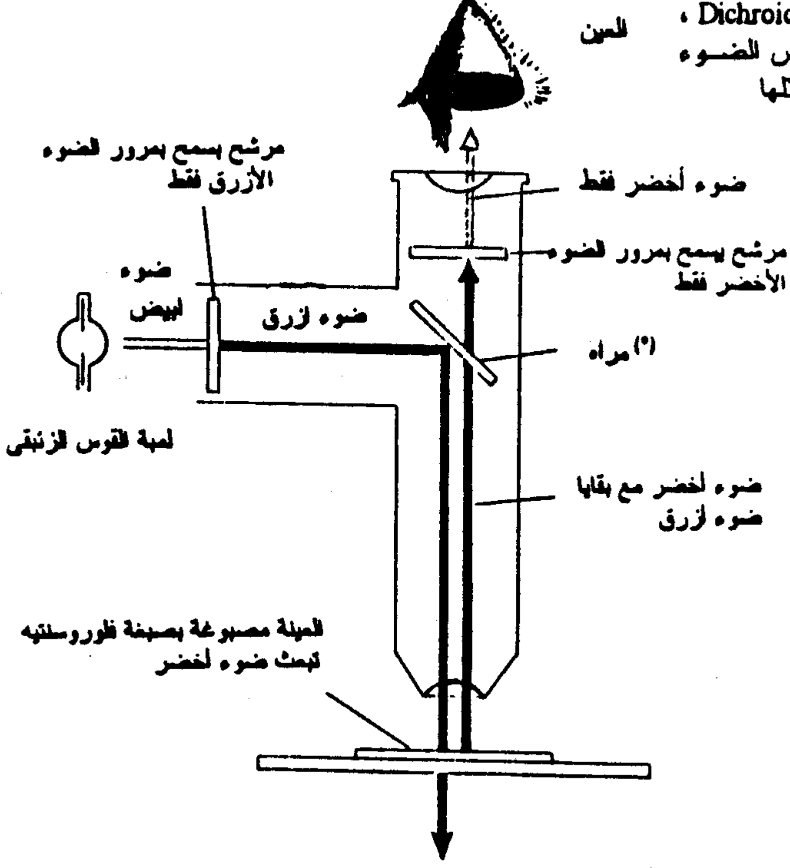
الأساس فى هذا المجهر (شكل ٣-٩) ، هو استعمال الصبغات الفلوروسنتيه Fluorescent dyes ، وهى مواد كيميائية ، لها القدرة على امتصاص ضوء قصير الطول الموجى ، ثم بثه فى صورة موجات أطول يمكن رؤيتها . وفى التطبيق العملى ، تصبغ الميكروبات بصبغة فلوروسنتيه ، وتضاء بالضوء الأزرق ، فتمتص الصبغة هذا الضوء الأزرق وتبثه فى صورة ضوء أخضر مرئى ، وعلى ذلك فإن عين الفاحص ، ترى الجزء المصبوغ من الغشاء ، بلون أخضر متوهج على خلفية سوداء ، أما الأجزاء غير المصبوغة من الغشاء ، فإنها تكون غير مرئية .

يستعمل هذا المجهر ، فى الدراسات المناعية الفلوروسنتيه Immunofluorescence ، فيما يعرف بتفاعلات الأنتجين والأجسام المضادة ، باستعمال طريقة الأجسام المضادة المفسفرة Fluorescent antibody technique . كما يستعمل هذا المجهر فى طرق التشخيص Diagnostic procedures ، وذلك لتعريف نوع معين من البكتريا - موجود فى مزرعة خليطة - بعد المعاملة بأنتيسيروم فلوروسنتى . كما يستعمل هذا المجهر فى التمييز بين سلالات الرايزوبيا، وفى دراسة طبيعة نمو جدار الخلية البكتيرية .

شكل ٣-٩ : الملامح العامة للمجهر الفلوروسنتى

(تظهر الأجزاء المصبوغة من العينة ، عند الفحص بلون أخضر على خلفية سوداء)

(*) المرآه لها خاصية ثنائية اللون Dichroic ، اى تمتاز بأنها قادرة على أن تعكس الضوء بلون مختلف ، عن لونه المار خلالها



مجهر الأشعة فوق البنفسجية : Ultraviolet microscope

يستخدم فى هذا المجهر ، الأشعة فوق البنفسجية كمصدر للضوء . وفى هذه الحالة يستعمل بالمجهر عدسات من الكوارتز بدلا من الزجاج الذى يمنع مرور هذه الأشعة . كما أن الصورة لاترى بالعين ، بل تؤخذ على لوحات حساسة بواسطة آلة تصوير .

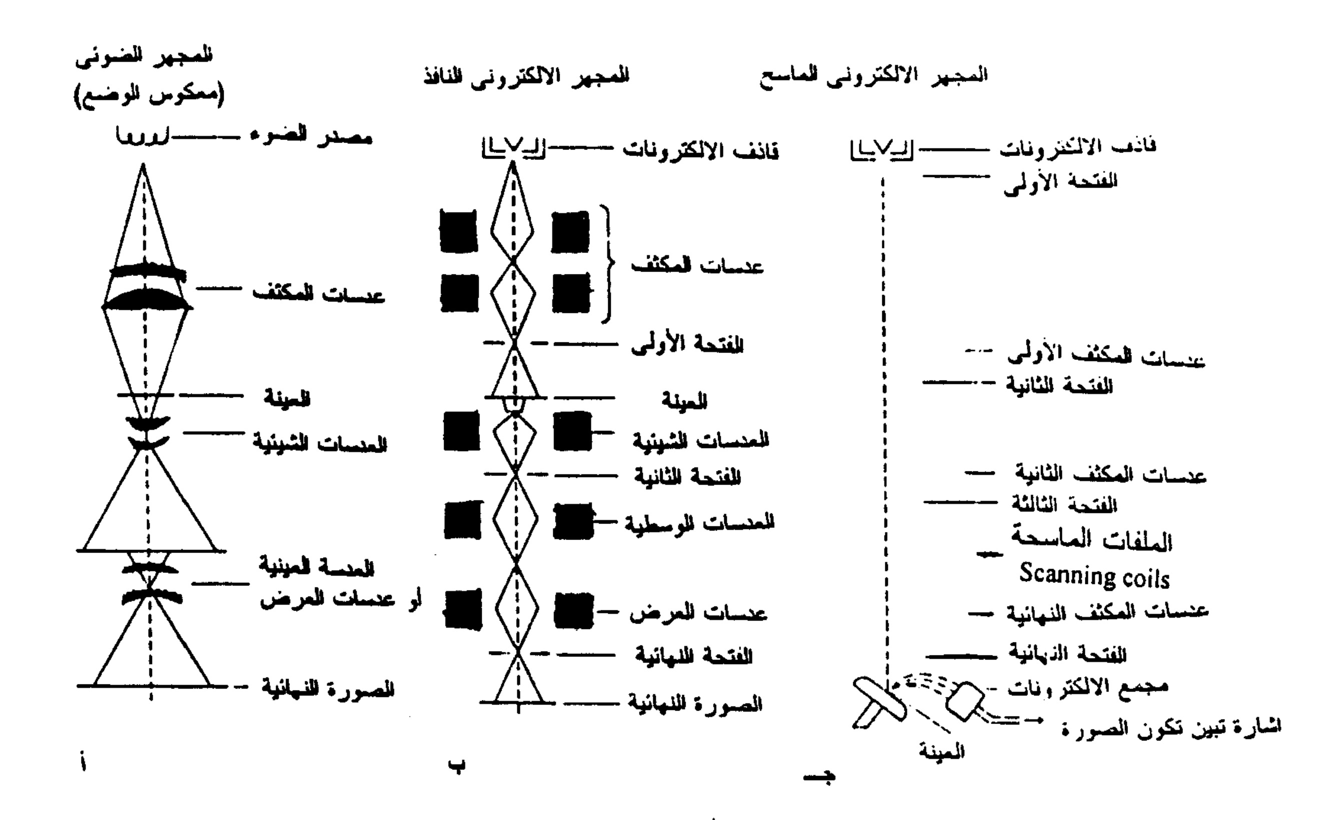
استعمال الأشعة فوق البنفسجية ، يزيد من القدرة التوضيحية بحوالى الضعف عن المجهر الضوئى . ويستعمل مجهر الأشعة فوق البنفسجية ، فى فحص التركيبات الخلوية ، والتمييز بينها ، وذلك بسبب اختلاف قدرة تلك التركيبات فيما بينها ، على امتصاص الأشعة فوق البنفسجية بدرجات متفاوتة .

عموما ، فإن استعمال هذا المجهر ، أصبح محدودا ، بسبب صعوبة طريقة الفحص به ، اللى تم تطويرها إلى طريقة المجهر الفلوروسنتى .

المجهر الإلكترونى : Electron microscope

يستعمل فى هذا المجهر (شكل ٣-١٠) ، شعاع من الإلكترونات ، ومجالات مغناطيسية حلقية ، للحصول على صورة للعينة ، وذلك بدلا من الموجات الضوئية والعدسات الزجاجية المستعملة فى حالة المجهر الضوئى .

وبما أن الطول الموجى للشعاع الإلكترونى متناهى فى الصغر ، لذلك فإن استعمال الإشعاع الإلكترونى ، يوفر قدرة توضيحية عالية للمجهر ، وهذا يمكننا من الوصول إلى قوة تكبير ضخمة .



شكل ٣-١٠ : رسم تخطيطى للمقارنة بين نظم تكوين الصورة فى
أ - المجهر الضوئى
ب - المجهر الالكترونى النافذ Transmission
جـ - المجهر الالكترونى الماسح Scanning

يستعمل عادة شريط تنجستين عند جهد ٣-١٥٠ كيلو فولت ، كمصدر للإلكترونات بالمجهر الإلكترونى، وبواسطة مجهر الكترونى ، يستخدم الكترونات ذات جهد ٦٠-٨٠ كيلو فولت ، فأن طول الموجه يساوى ٠,٠٥ A° (انجستروم) فقط ، بما يسمح بقدرة توضيحية لأجسام قطرها ١٠ A° ، أى بزيادة أكثر من ١٠٠٠ مرة عن القدرة التوضيحية للمجهر الضوئى ، ويعطى قوة تكبير حتى ٤٠٠ ألف .

وبسبب مايوفره المجهر الالكترونى من قدرة توضيحية وقوة تكبير عالية ، فانه يستخدم فى فحص الأجسام الدقيقة كالفيروسات والبكتريا ، وفى دراسة سطوح الميكروبات وماعليها من زوائد ، وكذلك الأغشية الخلوية الميكروبية ، وفى فحص التركيبات الداخلية الدقيقة للخلايا الميكروبية ، وتحديد مواقعها بالخلية .

تجهيز العينات للفحص

نظرا لأن استخدام إشعاع الإلكترونات ، يحتاج إلى تفريغ كبير فى الحيز الداخلى لأنبوبة المجهر للمحافظة عليها، لذلك فإن طرقا خاصة يجب أن تتبع لتجهيز العينة , كما أن العينة يجب أن تكون ذات سمك مناسب ، لتستطيع الإلكترونات من أن تمر خلالها .

تجرى للعينة عملية تثبيت Fixation للمحافظة على تركيبها ، وتجفيف Dehydration لإزالة المثبتات الزائدة ، وطمر Embedding فى البلاستيك لمنع تشوه العينة عند عمل القطاعات . ولفحص التركيبات الداخلية للخلايا ، تعمل قطاعات رقيقة جدا Ulrathin بسمك يتراوح مابين ٣٠-٦٠ نانومتر ، وذلك للعينه المطمورة فى البلاستيك بواسطة جهاز الترميكروتوم Ultramicrotome ، ذو قاطع خاص من الزجاج أو الماس .

توضع الأغشية الرقيقة المجففة على شبكة صغيرة ، ثم توضع الشبكة بما عليها من غشاء فى نقطة بين المكثف المغناطيسى والشيئية المغناطيسية . هذه النقطة تعادل المسرح بالمجهر الضوئى .

يمر الإشعاع الإلكترونى ، من خلال سلسلة من المجالات المغناطيسية ، التى توجه الإلكترونات بطريقة تماثل نظام عمل العدسات فى المجهر الضوئى ، وبذلك فإن الإلكترونات التى تنفذ ، أو التى تنعكس من الشيء المفحوص ، توجه لتكون صورة مكبرة . الصورة المتكونة يمكن رؤيتها على شاشة عرض مفسفرة Phosphorescent screen ، تسمح برؤية الصورة لامعة ، أو يمكن تصويرها على لوحات حساسة بآلة تصوير مثبتة بالمجهر . ويمكن تكبير الصورة المتكونة على اللوحة إلى ٦ مرات ، بواسطة جهاز مناسب ، دون أن تفقد الصورة تفاصيلها ، وبذلك نستطيع أن نكبر العينة الأصلية لعدة ملايين .

عند استخدام المجهر الإلكترونى النافذ ، فإننا نستعمل صبغات مناسبة لزيادة تباين العينة ، مثل الفوسفوتنجستات Phosphotungstate التى لاتنفذ إلى داخل العينة ، وتسمى الطريقة بطريقة الصبغ السالب Negative staining ، وتستعمل لفحص الفيروسات والأسواط البكتيرية ، كما نستعمل صبغة خلات اليورانيل Uranyl acetate ، التى تنفذ إلى داخل العينة ، وتسمى الطريقة بطريقة الصبغ الموجب Positive staining ، وتستعمل لفحص التركيبات الداخلية الدقيقة بالخلية الميكروبية .

ومن الطرق المستعملة فى الفحص : طريقة التظليل بـــالمعدن Metal shadowing ، والتحزيز بالتجميد Freeze-etching .

فى عملية التظليل بالمعدن ، تطمر العينة فى فيلم رقيق مـــن أبخـــرة معـــدن كثيـــف الإلكترونات مثل البلاتين أو الذهب . حيث تغلف ذرات المعدن معالم سطح العينة بزوايا معينـــة لتعطى ظلالا بالمستوى السفلى للغشاء ، مما يزيد من وضوح العينة وإبراز معالم سطحها .

فى طريقة التحزيز بالتجميد ، فإن معلق الخلايا يجمد بسرعة فى قـــالب ، ثـــم تعمـــل قطاعات من العينة ، ويعرض السطح المستوى الناتج لتفريغ كبير ، فيتســـامى الثلـــج ، تاركـــا التركيبات الدقيقة للخلية بحالتها In relief . تعمل طبعات مـــن الســـطوح بـــالكربون Carbon replica ، ويقوى التباين بالتظليل المعدنى .

وقد أفادت طريقة التحزيز بالتجميد ، فـــى إعـــداد قطاعـــات للعينـــة ، دون حـــدوث التشوهات التى تحدث عند تحضير العينة ، نتيجة عملية التثبيت الكيميائى ، وبذلك أمكن فحـــص تركيبات الأغشية وسطوحها ، والتركيبات الخلوية الداخلية ، كما كانت عليه فى الحالة الحية .

الأنواع المستعملة فى الفحص

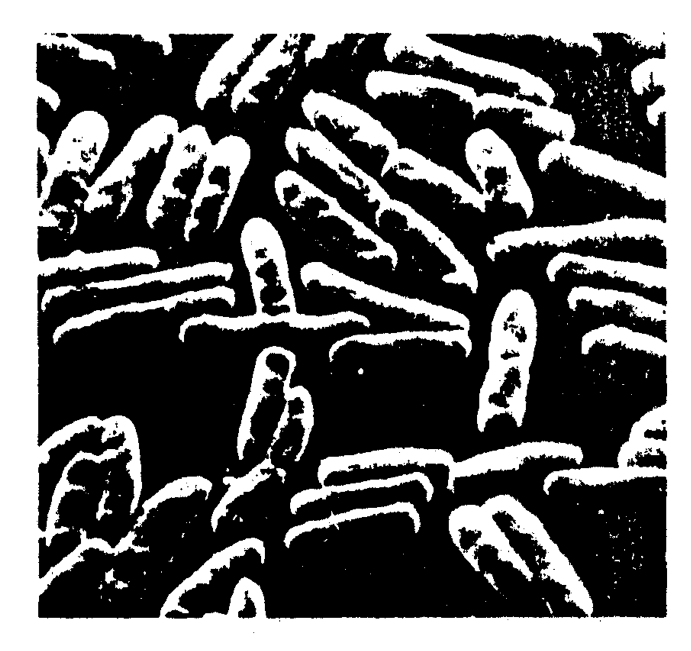
يوجد نوعان رئيســـيان مـــن المجـــهر الإلكـــترونى : المجـــهر الإلكـــترونى النـــافذ Transmission (TEM) ، والمجهر الإلكترونى الماسح Scanning (SEM) .

فى حالة المجهر النافذ ، تتعرض العينة كلية للإشعاع الإلكترونى ، الذى ينفـــذ مـــن العينة ، ليكون الصورة على شاشة العرض . ويأتى التباين فى الصورة مـــن الإختلافـــات فـــى الكثافة الإلكترونية للعينة ، أى من كمية الالكترونات التى تستطيع المرور مـــن أجـــزاء العينـــة المختلفة .

أما فى المجهر الماسح ، فإن كمية قليلة من الإشعاع الإلكترونى هـــى التـــى تمســـح العينة . وتتجمع الإلكترونات المنبعثة من العينة ، لتكون الصورة على أنبوبـــة أشـــعة المـــهبط Cathode tube . ورغم أن المجهر الماسح ، لايعطى القدرة التوضيحية العالية ، الناتجة مـــن المجهر النافذ ، إلا أنه يعطى صورة للعينة ذات أبعاد ثلاثية Three-dimensional structure ، أى صورة مجسمة ، مما يجعله عظيم الفائدة فى دراسة الخـــواص المورفولوجيـــة ومميـــزات السطوح ، للخلايا الميكروبية (شكل ٣-١١) .

محددات الاستعمال

رغم القدرة التوضيحية العالية ، وقـــوة التكبـــير الكبـــيرة ، التـــى يوفرهـــا المجـــهر الإلكترونى ، إلا أن هناك عوامل تحدد استعماله . فالعينة يجب أن تفحص فى جو مفرغ ، لذلـــك فإن الخلايا لايمكن فحصها وهى حية . كما أن عملية تثبيت الغشاء وتجفيفه ، قد تحدث بعـــض التشوهات بالعينة ، وتغير من الخواص المورفولوجية للغشاء . ولدراسة التركيبـــات الداخليـــة بالخلية ، فإن الأمر يتطلب عمل قطاعات رقيقة جدا ، حتى تستطيع الإلكترونات أن تمر خلالها، وعلاوة على ذلك ، فإن استخلاص النتائج ، خاصة تلك المتعلقة بتعريف التركيبـــات الداخليـــة للخلية ، يتطلب خبرة كبيرة من الفاحص .



شكل ٣-١١ : صورة بالمجهر الالكترونى الماسح لخلايا بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*

متوسط أبعاد هذه البكتريا : ٠,٥ - ١,٠ × ١,٥ - ٤,٠ µm .

وجدول ٣-١ التالى ، يوضح بعض المعالم الرئيسية للمجاهر المستعملة فى الفحص البيولوجى .

إعداد العينات للفحص بالمجهر الضوئى

تستعمل طريقتان أساسيتان ؛ لاعداد العينات للفحص بالمجهر الضوئى . إحداهما فحص الميكروبات المعلقة فى السائل (الطريقة المبتله وطريقة النقطة المعلقة) ، والثانية لفحص الغشاء الميكروبى بعد تجفيفة وتثبيته وصبغه .

الطريقة المبتلة : Wet-mount technique

تسمح الطريقة المبتلة بفحص الميكروبات ، فى حالتها الحية الطبيعية ، وهى عالقة فى نقطة من البيئة النامية عليها . توضع نقطة من المزرعة السائلة ، أو من السائل المحتوى على الميكروبات ، على شريحة زجاجية ، ثم تغطى النقطة بغطاء الشريحة . قد تحاط النقطة ، أو تجويف الشريحة ، بفازلين أو مادة مشابهة ، لاحكام التصاق الغطاء بالشريحة ، وذلك لتجنب تأثير تيارات الهواء ، وتقليل البخر .

قد يستعمل فى التحضيرات المبتلة ، شريحة خاصة ذات تجويف ، حيث توضع نقطة معلق الميكروبات فى وسط غطاء الشريحة ، ثم يقلب الغطاء ويوضع على تجويف الشريحة لعمل نقطة معلقة Hanging drop .

يفضل استعمال طريقة الفحص بالطريقة المبتلة ، عند دراسة الشكل المورفولوجى للبكتريا الحلزونية ، مثل بكتريا الزهرى ، الذى يتعرض للتلف عند فحصه مصبوغا ، وفى دراسة حركة البكتريا ، والتغيرات السيتولوجية التى تحدث أثناء انقسام الخلية ، وتكون الجراثيم وإنباتها ، وكذلك فى دراسة بعض المواد المخزنة بالخلية مثل الليبدات والفجوات .

جدول ٣-١ : مقارنة بين أنواع المجاهر المختلفة .

نوع المجهر	أقصى قوة تكبير مستخدمة	مظهر العينة	الاستخدامات الهامة
المجال المضيء Bright-field	١٠٠٠ – ٢٠٠٠	الغشاء يصبغ أو لا يصبغ وعادة تصبغ البكتريا ، وتظهر لون الصبغة	الدراسات المورفولوجية الخاصة بالبكتريا ، الخمائر ، الفطريات ، الطحالب ، البروتوزوا
المجال المظلم Dark-field	١٠٠٠ – ٢٠٠٠	الخلايا عادة لاتصبغ تظهر الخلايا مضيئة لامعة بينما المجال يكون مظلما	دراسة الميكروبات التى لها خواص مورفولوجية معينة وهى حية أو فى السوائل ، مثل السبيروكيتا
متباين الأطوار الضوئى Phase contrast	١٠٠٠ – ٢٠٠٠	درجات مختلفة من التباين فى الاضاءة	دراسة التركيبات الخلوية ، فى الخلايا الحية كبيرة الحجم مثل الخمائر ، الفطريات ، البروتوزوا ، وبعض البكتريا
الفلوروسنتى Fluorescent	١٠٠٠ – ٢٠٠٠	يظهر الغشاء لامعا وملونا بلون الصبغة الفلوروسنتية	الدراسات التشخيصية لتعريف الميكروب تفاعلات الأنتجين والأجسام المضادة
الالكترونى Electron	٢٠٠ ألف – ٤٠٠ ألف	ترى العينة على شاشة مفسفرة	فحص الفيروسات ، والتركيبات الدقيقة بالخلايا الميكروبية

References :

Bradbury, S. (1968). The Microscope, Past and Present. Pergamon, New York.
Ohnsorge, J. & R. Holme (1973). Scanning Electron Microscopy Publishing Science Group. Acton Mass. U.S.A.
Weakley, Brenda, S. (1972). A Beginner's Handbook in Biological Electron Microscopy. Williams & Wilkins. Baltimore, USA.

طريقة الأغشية المثبتة المصبوغة Fixed stained smears

البكتريا عديمة اللون تقريبا ، شبه شفافة ، لذلك فإن صبغ خلاياها ، يزيد من وضـــوح رؤيتها ، وسهولة تمييزها عن الوسط الموجودة به . من أجل ذلـــك ، فـــإن طريقـــة الأغشـــية المصبوغة شائعة الإستعمال فى فحص خلايا البكتريا ، لدراسة شكلها الظاهرى ، وتركيباتـــها الخارجية والداخلية ، والتمييز بين أنواعها ، باستعمال طريقة الصبغ المناسبة .

وتتضمن الخطوات الأساسية ، فى تحضير غشاء مثبت مصبوغ ، الخطوات الآتية

١- تحضير الغشاء Preparation of film, smear

٢- تثبيت الغشاء .... Fixation

٣- الصبغ Staining بنوع واحد أو أكثر من الصبغات

الصبغات الميكروبيولوجية

الصبغة Dye ، عبارة عن أملاح مركبات عضوية ملونة ، غالبا ماتكون نواتج قطـران الفحم Coal tar ، وعندما تتأين الصبغة ، فان أحد أيوناتها يحمل اللون ، وتصبح له القدرة على الإتحاد مع بعض المواد الأخرى ، وإكسابها لونا معينا .

تنتمى الصبغات الى مجموعات كيميائية عديدة منها

- **مجموعـة Triphenyl methane dyes** : ويتبـع هـذه المجموعـة أغلـب الصبغـات البكتريولوجية الهامة مثل : المالاكيت الأخضر ، الفوكسين الحامضى والقاعدى ، الكريســتال البنفسجى ، الروزانيلين .
- **مجموعة Xanthine dyes** : ويتبعــها الأيوســين ، الإريزروســين ، الفلوروســين ، الروزبنجال ، وبعض الأدلة .
- **مجموعة Azo dyes** : ويتبعها كونجو رد ، سودان بلاك B .
- **مجموعة Thiazine dyes** : ويتبعها المثيلين الأزرق ، تولويدين بلو .
- **مجموعة Oxazine dyes** : ويتبعها الريزازورين .
- **مجموعة Azine dyes** : ويتبعها النيجروسين .

وتقسم الصبغات حسب تفاعلها ، إلى صبغات حامضية ، وقاعدية ، ومتعادلة .

الصبغات الحامضية Acidic, anionic dyes ، عبارة عن أملاح (غالبـا الصوديـوم) لأحماض ملونة . وعندما تتأين الصبغة الحامضية ، فإن الأنيون ذو الشحنة السالبة ، هو الـــذى يحمل اللون من جزىء الصبغة .

من أمثلة هذه الصبغات : الفوكسين الحامضى ، النيجروسين ، والأيوسين . وعلى سبيل المثال فعندما تتأين صبغة الأيوسين (وهى عبارة عن ملح أيوسينات صوديوم) ، فإنها تعطى (صوديوم)$^+$ و(أيوسينات)$^-$ ، وهذا الأنيون السالب الشحنة (الايوسينات)$^-$ ، هو حامل لون الصبغة Chromophore .

الصبغات القاعدية Basic, cationic dyes ، عبارة عن أملاح (غالبا الكلوريد) لقواعد ملونة . وعندما تتأين الصبغة القاعدية ، فإن الكاتيون ذو الشحنة الموجبة ، هو الذى يحمل اللون من جزىء الصبغة .

من أمثلة هذه الصبغات : المثيلين الأزرق ، المالاكيت الأخضر ، الكريستال البنفسجى. وعلى سبيل المثال ، فعندما تتأين صبغة المثيلين الأزرق (وهى عبارة عن كلوريد المثيلين) ، فإنها تعطى (كل)$^-$ و(مثيلين أزرق)$^+$ ، وهذا الكاتيون الموجب الشحنة (المثيلين الأزرق)$^+$ ، هو حامل لون الصبغة .

الصبغات المتعادلة Neutral dyes عبارة عن ملح مركب من صبغة حامضية مع صبغة قاعدية ، مثل صبغة أيوسينات المثيلين الأزرق Eosinate of methylene blue .

تستعمل كل من الصبغات الحامضية والقاعدية فى الأعمال البكتريولوجية ، وتصبغ الصبغات الحامضية عادة ، الأجزاء القاعدية من الخلية ، بينما تصبغ الصبغات القاعدية ، الأجزاء الحامضية من الخلية مثل النواه . وعموما ، فإن الصبغات القاعدية شائعة الاستعمال فى صبغ البكتريا .

تفاعل الصبغة

تحمل خلايا البكتريا ، شحنة سالبة ، عندما يكون الرقم الايدروجينى للوسط قريبا من التعادل ، وهو الوسط المعتاد غالبا لنمو البكتريا . وعند استعمال صبغة قاعدية مثل المثيلين الأزرق ، تتحد خلايا البكتريا ذات الشحنه السالبة ، مع أيون المثيلين الأزرق ذو الشحنه الموجبة ، مما يؤدى الى صبغ الخلية . وعلى ذلك فإن الاختلاف فى الشحنة ، هو الذى يكون حالة قابلية الإرتباط **Affinity** بين الصبغة وبين خلية البكتريا .

تتم عملية الصبغ نتيجة تفاعلات تبادل أيونى **Ion-exchange reactions** ، تحدث بين الصبغة والجزء القابل للصبغ بسطح أو بداخل الخلية . وقد تتفاعل الصبغة مع بعض المجاميع الكيميائية المكونة لبروتين الخلية أو الأحماض النووية ، مع تكوين ملح أو مركب كيميائى . وفى حالات أخرى ، يحدث الصبغ نتيجة تغليف الصبغة لسطح الخلية بالإدمصاص ، أو نتيجة الإذابة والترسيب فى المادة المحيطة بالخلايا .

ويمكن تمثيل تفاعلات التبادل الأيونى ، التى تتم عند الصبغ ، بالمعادلة العامة التالية ، حيث يحل كاتيون المثيلين الأزرق الموجب الشحنة بالصبغة ، محل كاتيون الصوديوم الموجب الشحنة بالخلية ، وبذلك يتحد كاتيون المثيلين بخلية البكتريا السالبة الشحنة .

(خلية بكتريا ⁻) (ص⁺) + (كلوريد ⁻) (المثيلين الأزرق ⁺) ←———

(خلية بكتريا ⁻) (المثيلين الأزرق ⁺) + (ص⁺ كل ⁻)

عموما ، فقد لوحظ أن الكثير من التفاعلات التى تتم بين الصبغة ومكونات الخلية ، ليست كلها فيزيائية أو كلها كيميائية ، ولكنها غالبا ماتجمع بين النوعين من التفاعلات .

قد يضاف لمحلول الصبغة **Stain** ، بعض المواد التى تزيد من قدرتها على الصبغ ، مثل الفينول الذى يزيد من قدرة الصبغة على النفاذ بالخلية ، كما أن استعمال الحرارة أثناء الصبغ يزيد من قوة اتحاد الصبغة بالخلية ، وهناك مواد أخرى تسمى مرسخات **Mordants** ، لها القدرة على أن تكون مع الصبغة مركبات غير ذائبة ، ترسب على الخلايا ، وتثبت الصبغة بها ، وبذلك تعمل المرسخات على ترسيب الصبغة وتثبيتها بالخلايا ، فتزيد من القدرة على الصبغ .

ومن أمثلة المرسخات : حامض التانيك المستعمل فى صبغ جدار الخلية ، واليود المستعمل فى صبغة جرام ، وكذلك بعض القواعد وأملاح المعادن .

الصبغ البسيط Simple staining

فى هذه الطريقة ، تستعمل صبغة واحدة لتلوين البكتريا المثبتة بالغشاء ، ويأخذ الميكروب لون الصبغة المستعملة ، مثل الصبغ بالصفرانين ، أو كربول الفوكسين أو المثيلين الأزرق .

وتستعمل هذه الطريقة من الصبغ ، لتمييز البكتريا عن الوسط المحيط بها ، ولبيان شكلها ، وحجمها ، ونظام تجمعها . وفى بعض الحالات خاصة عند الصبغ بالمثيلين الأزرق ، فان بعض الحبيبات الموجودة بداخل الخلية ، تصبغ بدرجة أكبر عن باقى الخلية ، مما يشير الى إحتوائها على تركيبات كيميائية مختلفة .

الصبغ التفريقى (التمييزى) Differential staining

فى هذه الطرق ، تستعمل أكثر من صبغة واحدة ، فى عدة خطوات متتالية ، أو فى خطوة واحدة . وتستعمل هذه الطرق للتمييز بين أنواع البكتريا المختلفة ، أو لتمييز أجزاء الخلية البكتيرية ، وبعض تركيباتها المختلفة .

ومن الصبغات التفريقية المستعملة فى الفحص البكتريولوجى

١- صبغة جرام : Gram stain

تعتبر طريقة الصبغ بجرام ، من أهم الطرق المستعملة فى دراسة البكتريا ، والتمييز بين أنواعها ، وإن كانت لاتستعمل عادة مع الميكروبات الأخرى كالبروتوزوا والفطر ، أما الخمائر ، فإنها تظهر دائما موجبة لصبغة جرام .

أدخلت هذه الطريقة عام ١٨٨٤ ، بواسطة العالم الدانمركى جرام Christian Gram. وفى هذه الطريقة ، يعرض الغشاء المثبت لصبغة الكريستال البنفسجى (كصبغة أساسية Basic stain) ، ثم محلول اليود (كمرسخ Mordant) ، ثم كحول الإيثانول (كعامل لإزالة اللون Decolorizing agent) ، ثم الصفرانين أو الفوكسين المخفف (كصبغة مضادة Counter-stain) .

الخلايا التى تحتفظ بلون الصبغة الأساسية (اللون البنفسجى) عقب استعمال مزيل اللون ، تسمى موجبة لصبغة جرام Gram-positive ، أما الخلايا التى زالت منها الصبغة الأساسية ، وأخذت لون الصبغة المضادة (اللون المحمر) ، فتسمى سالبة لصبغة جرام Gram-negative . وعلى ذلك ، فإنه باستعمال طريقة الصبغ بجرام ، يمكن تقسيم البكتريا الى مجموعتين : مجموعة موجبة لصبغة جرام وأخرى سالبة لصبغة لجرام .

سبب الاختلاف فى الصبغ

يعتقد أن سبب الإختلاف فى الصبغ ، بين هاتين المجموعتين من خلايا البكتريا ، الموجبة والسالبة لصبغة جرام ، يعود إلى الإختلافات الموجودة بين جدر الخلايا البكتيرية ، من حيث طبيعة بناء تلك الجدر ، والتركيب الكيميائى لتلك الطبقات السطحية من الخلايا البكتيرية .

فبينما نجد أن جدار البكتريا الموجبة لصبغة جرام سميك وبه نسبة قليلة من الليبيدات ، إذ يتكون أساسا من طبقة سميكة من الببتيدوجلوكان Peptidoglucan ، نجد أن جدار البكتريا السالبة لصبغة جرام رقيق وبه نسبة مرتفعة من الليبيدات ، حيث يتكون من عدة طبقات Multilayered : طبقة رقيقة من الببتيدوجلوكان ، محاطة بطبقات خارجية من البروتين والليبيدات وعديدات التسكر .

هذه الاختلافات فى التركيب بين نوعى البكتريا ، وفى درجة نفاذية تلك التركيبات السطحية للمحاليل المستعملة فى صبغة جرام ، تسبب التفرقة فى الصبغ بين نوعى البكتريا .

فعند صبغ الخلايا السالبة لصبغة لجرام ، وهى ذات جدار خلوى رقيق وبه نسبة مرتفعة من الليبيدات ، فان الكحول يزيل الليبيدات ، فتزداد سعة الثقوب spores الموجودة بالجدار وبالتالى يمكن إزالة معقد الكريستال البنفسجى واليود Crystal violet iodine complex ، الذى تكون نتيجة الصبغ ، بواسطة مزيل اللون ، وبذلك تفقد الخلايا لون الصبغة البنفسجى ، وتأخذ لون الصفرانين المحمر .

بينما فى الخلايا الموجبة لصبغة جرام ، وهى ذات جدار خلوى سميك وبه نسبة قليلة من الليبيدات ، فان الكحول يسبب تجفيفا للجدار ، فتقل سعة ثقوبه وتقل نفاذيته ، فلا يزول معقد الكريستال البنفسجى واليود ، المترابط مع طبقة الببتيدوجلوكان السميكة ، وبذلك تحتفظ الخلايا باللون البنفسجى ، بعد استعمال مزيل اللون .

ومما يؤيد أن جدار الخلية ، هو المكان الذى يحتفظ بلون الصبغة الأساسية (البنفسجى) ، فإنه عند معاملة البكتريا الموجبة لصبغة جرام بإنزيم الليسوزيم (وهو انزيم يحلل جدار الخلية ، ويحولها الى بروتوبلاست ، أى خلية بدون جدار) ، فإن الخلية تفقد خاصية الاحتفاظ بلون صبغة الكريستال البنفسجى .

وعلى الرغم من أن البكتريا السالبة لصبغة جرام ، ثابته دائماً فى تفاعلها مع صبغة جرام ، أى لاتحتفظ بلون صبغة الكريستال البنفسجى ، فإن البكتريا الموجبة لصبغة جرام ، تحت ظروف خاصة ، تكون متباينة Gram variable فى تفاعلها مع هذه الصبغة ، فتفقد إيجابيتها على الاصطباغ بها ، وتظهر سالبة . ويحدث ذلك نتيجة لقدم المزرعة ، أو لحدوث اختلافات فى الظروف البيئية ، كزيادة حموضة البيئة ، أو معاملة الخلايا بإنزيم الرايبونيوكليز أو أملاح الصفراء ، أو سحق الخلايا ، أو حدوث إختلافات فى طريقة الصبغ مثل عدم إعطاء الوقت الكافى لكل خطوة ، أو إستعمال أصباغ قديمة ، أو استعمال الكحول أثناء الصبغ بدون احتراس .

ونجد داخل أفراد بعض المجاميع البكتيرية ، مثل مجموعة الأركى باكتريا Archaebacteria، نجد أن بعضها يكون موجبا لصبغة جرام ، والبعض الآخر يكون سالبا لصبغة جرام ، وهذا يدل على أن التركيب البنائى والكيميائى لجدر خلايا بكتريا الأركى ، يختلف كثيراً عن تركيب الجدر فى البكتريا العادية (الحقيقية) سواء الموجبة أو السالبة لصبغة جرام .

الإرتباط بين تفاعل جرام وخواص البكتريا

تختلف البكتريا الموجبة لصبغة جرام فى بعض الخواص عن البكتريا السالبة لصبغة جرام . ويوضح الجدول (٣-٢) بعض المميزات الهامة لكل مجموعة .

٢- الصبغة الصامدة للأحماض : Acid-fast stain

يصعب بالطرق العادية ، صبغ بعض خلايا البكتريا ، مثل الميكوبكتريا والأكتينوميسيتات ، وذلك لإحتوائها على نسبة مرتفعة من مواد شمعية وليبيدات ، لاتسمح للصبغة العادية بتخلل الخلية ، لذلك نلجأ الى صبغ هذه الخلايا بطريقة الصبغ الصامد للأحماض .

فى هذه الطريقة ، تعرض الأغشية المثبتة ، إلى صبغة كربول الفوكسين (وهى صبغة ذات قابلية كبيرة لصبغ هذه الخلايا) ، مع التسخين (لتمكين الصبغة من النفاذ إلى الخلايا) ، ثم الغسيل بكحول ايثانول حامضى (كحول ايثانول مضاف له حامض ايدروكلوريك) ، ثم الصبغ بالمثيلين الأزرق كصبغة مضادة .

خلايا البكتريا التى تحتفظ باللون الأحمر لصبغة كربول الفوكسين ، تسمى صامدة (مقاومة) للأحماض ، حيث أن الصبغة تثبت فيها ، ويتعذر إزالتها حتى باستعمال الكحول المضاف له الحامض ، وبسبب هذه الخاصية ، أطلق على هذه الطريقة من الصبغ ، مصطلح الصبغ الصامد (المقاوم) للأحماض ، أما الخلايا غير المقاومة للأحماض Non-acid fast ، فإن

جدول ٣-٢ : بعض الفروق الهامة بين البكتريا الموجبة والبكتريا السالبة لصبغة جرام .

الخاصية	بكتريا موجبة لجرام	بكتريا سالبة لجرام
تأثير الصبغات القاعدية (كالكريستال البنفسجى)	حساسة	أقل حساسية
تأثير مركبات السلفا	حساسة	أقل حساسية
تأثير المضادات الحيوية	حساسة للبنسلين	حساسة للإستربتومايسين
تأثير الجذب السطحي المنخفض	حساسة	أقل حساسية
تحلل جدار الخلية بانزيم الليسوزيم	يتحلل	تحتاج الى معاملات خاصة ، لكي تتأثر بالانزيم
تحلل الخلايا (الميته) بانزيمى البيسين والتربسين	مقاومة	حساسة
تأثير أزيد الصوديوم	مقاومة	حساسة
الإذابة فى ١% NaOH	مقاومة	تذوب
نسبة الرنا إلي الدنا ، بالخلية (تقريبا)	١:٨	١:١
وجود الأحماض الأمينية والكبريتية فى جدار الخلية	لايوجد	يوجد
وجود الليبيدات فى جدار الخلية	قليل	كثير
نقطة التعادل الكهربائية (pH)	٢,٥ – ٤,٠	٤,٥ – ٥,٥
الأنواع التابعة	العصويات المتجرثمة وأغلب الكرويات	أغلب العصويات غير المتجرثمة وبعض الكرويات

الكحول الحامضى يزيل منها لون صبغة كربول الفوكسين الأحمر ، وبذلك تأخذ الخلايا اللون الأزرق للصبغة المضادة ، صبغة المثيلين الأزرق .

تحتوى أغلفة الخلايا الصامدة للأحماض ، على نسبة مرتفعة من الليبيدات (خاصة من حامض المايكوليك)* ، وعند الصبغ ، ومع التسخين ، فإن محلول الصبغة (كربول الفوكسين والفينول) ينفذ إلى الخلية ، وتمنع أغلفة الخلية ، اللون الأحمر لكربول الفوكسين ، من الخروج من الخلية ، حتى ولو عوملت الخلية بكحول حامضى ، ولكن إذا ماأزيلت أغلفة الخلية ، فإن الليبيدات تخرج مع أغلفة الخلية ، وبذلك تفقد الخلية قدرتها على الصبغ المقاوم للأحماض .

* حامض المايكوليك Mycolic acid ، حامض دهنى ، إيدروكسيلى ، طويل السلسلة الكربونية ، متفرع ، وهو المسئول أساساً عن خاصية الصبغ الحامضى . أنظر تقسيم المايكوبكتريوم ، الباب السابع ، الفصل الثانى ، ص ٤١٢.

تستعمل طريقة الصبغ الصامد للأحماض ، فى تشخيص ودراســـة مســببات بعــض الأمراض ، مثل مرض السل والجذام ، التى تسببها أنواع من البكتريا الصامدة للأحماض تابعــة لجنس *Mycobacterium* ، كما أن هذه الصبغة تستعمل كصبغة تفريقية لعدد كبير من البكتريا المترممة ، غير الضارة ، الصامدة للأحماض .

ومما يذكر ، فإن الكائنات الصامدة للأحماض ، موجبة لصبغة جرام ، غير أن صبغــة جرام فى هذه الحالات ، لاتعطى المعلومات الكافية عن هذه الخلايا ، مثل تلك التـــى توفرهــا الصبغة الصامدة للأحماض .

صبغات أخرى :

بالإضافة إلى ماسبق ، فإنه توجد صبغات وطرق أخرى من الصبغ ، تستعمل لفحــص وتمييز التركيبات المختلفة بالخلية . **ومن أمثلة هذه الصبغات**

١- صبغة الجراثيم الداخلية .... Endospore stain
٢- صبغة الكابسول (العلبة) .... Capsule stain
٣- صبغة جدار الخلية .... Cell-wall stain
٤- صبغة الأسواط (الفلاجلات)........................ Flagella stain
٥- صبغة فولجين (لصبغ المادة النووية) .... Feulgen stain
٦- صبغة جيمسا (لصبغ الريكتسيا وبعض البروتوزوا) Giemsa stain
٧- صبغات المواد المخزنة بالسيتوبلازم Cytoplasmic inclusion stains

مثل صبغ حبيبات النشا ، الجليكوجين ، عديد الفوسفات ، حامض هيدروكسى بيوتـــيريك ، وغيرها من المواد المخزنة .

الصبغ السالب (غير المباشر) : Negative (indirect) staining

يستعمل فى هذه الطريقة ، الصبغات الحامضية ، مثـــل الأيوســـين أو النيجروســـين . وتعود قدرة هذه الصبغات على التلوين الى أيونها السالب . هذه الأيونات السالبة للصبغة لاتتحــد مع خلايا البكتريا السالبة الشحنة ، وبالتالى لاتصبغها ، ولكن ترسب على الشريحة حول خلايـــا البكتريا ، ويظهر الميكروب شفافا غير مصبوغ ، على شريحة مصبوغة ملونة ، لذلك فإن هـــذا النوع من الصبغ ، يسمى بالصبغ السالب أو غير المباشر .

الصبغ السالب ، غير شائع الإستعمال فى الأعمال البكتريولوجيـــة . إلا أن لـــه فـــائدة واحدة عن الصبغ المباشر ، إذ أنه يعطى صورة أكثر وضوحا ودقة للخلية البكتيريـــة ، ولذلـــك فإنه يستعمل أساسا فى فحص السبيروكيتا التى يصعب صبغها بالطرق العادية . على أن يراعـى فى طريقة الصبغ السالب ، أن يكون غشاء الصبغة على الشريحة رقيقا ، حتى لايحدث تشوهات للخلايا وتشققات بالغشاء الخلوى ، أثناء عملية التجفيف .

التعقيم Sterilization

التعقيم ، من وجهة النظر الميكروبيولوجية ، هو الإبادة الكاملة ، أو الازالة التامة ، لجميع الكائنات الحية الموجودة فى مادة ما . ويتم ذلك بوسائل عديدة منها الحرارة أو الترشيح ، أو استعمال طرق أخرى فيزيائية أو كيميائية ، ولكل طريقة مميزاتها ، والعوامل التى تحدد استعمالها .

يلجأ الى قتل الميكروبات ، أو إزالتها ، أو تثبيطها لعدة أغراض ، منها

١- منع عدوى الانسان أو الحيوان أو النبات .
٢- منع فساد الأغذية .
٣- منع التلوث فى الصناعات التخميرية ، التى تعتمد على مزارع نقية .
٤- منع تلوث الأدوات ، والمزارع ، المستعملة فى المعامل الميكروبيولوجية .

ومن الناحية العملية ، فإن الميكروبات المطلوب التخلص منها بالتعقيم ، هى مجتمع ميكروبى خليط ، لأنواع عديدة ، تختلف كثيرا فيما بينها ، وفى درجة مقاومتها للقتل . لذلك فعند إجراء التعقيم ، فإنه بالاضافة الى معرفة ظروف البيئة الموجودة بها الميكروبات ، فإنه يجب أن يوضع فى الاعتبار حجم المجتمع الميكروبى الموجود Initial population size ، ومعدل موت Death rate أكثر الأنواع مقاومة فى هذا المجتمع الخليط ، ألا وهى الجراثيم الداخلية للبكتريا . فالتخلص من الجراثيم البكتيرية ، هو الدليل على كفاءة طريقة التعقيم المستخدمة . فبينما تقتل البكتريا الخضرية والخمائر والفطريات على درجة ٨٠ م لمدة ١٠ دقائق ، نجد أن الجراثيم البكتيرية تحتاج الى ١٥ دقيقة على درجة ١٢٠ م .

وسنناقش فى هذا الباب ، الأسس والطرق العامة ، الخاصة بقتل أو ازالة الميكروبات، دون الدخول فى تفصيلات الخطوات العملية ، التى يمكن الرجوع اليها فى كتب العملى المتخصصة .

التعقيم بأستعمال الحرارة : Sterilization by heat

تعتبر الحرارة ، من أكثر الطرق استعمالا فى التعقيم ، وفى ذلك ، قد يستخدم اللهب المباشر ، أو الحرارة الجافة ، أو الحرارة الرطبة .

التعقيم باللهب : Sterilization by flame

يستعمل اللهب المباشر ، من موقد بنزن Bunsen burner لقتل الميكروبات ، وذلك كعمل روتينى بالمعامل للمواد التى تتحمل اللهب المباشر ، مثل ابر التلقيح ، والشرائح الزجاجية ، ، وفوهات الأنابيب والدوارق .

كما تستعمل عملية الترميد (الحريق حتى الرماد Incineration) ، للتخلص من الجثث، وحيوانات التجارب ، والمواد الملوثة المطلوب التخلص منها . وفى عملية الترميد ، يجب اتخاذ الاحتياطات المناسبة ، للتأكد من أن الدخان المتصاعد أثناء الحريق ، لايحمل موادا بها

ميكروبات حية ، ومن أن المواد المطلوب التخلص منها ، قد احترقت تمامـــا ، ومـــع مراعـــاة المحافظة على منع تلوث البيئة ، وقد يستعمل فى هذه العملية أفران خاصة .

التعقيم بالحرارة الجافة : Sterilization by dry-heat

يستعمل فى ذلك معقم الهواء الساخن Hot-air sterilizer ، وهو فـــرن كـــهربائى أو غازى ، يمر به تيار من الهواء الساخن الجاف ، ويتم التعقيم على درجة حـــرارة ١٦٠ أو ١٧٠ أو ١٨٠°م لمدة ٢ أو ١ أو نصف ساعة على التوالى ، وإذا ماأرتفعت الحـــرارة عـــن ١٨٠°م ، تتفحم السدادات القطنية .

تستخدم الحرارة الجافة لتعقيم الأدوات الزجاجية مثل أنابيب الاختبـــار ، الماصـــات ، أطباق بترى ، الدوارق ، المساحيق ، المواد الصلبة ، وغيرها من المواد التى تتحمـــل درجـــة الحرارة العالية . ولمنع إعادة التلوث بعد التعقيم ، تلف المواد المطلوب تعقيمها فـــى ورق ، أو توضع فى أوعية مناسبة .

ولاتصلح هذه الطريقة ، لتعقيم السوائل ، أو البيئات المزرعية ، حيث أنـــها ستتلف بتعرضها للغليان حتى الجفاف .

فى عملية التعقيم بالحرارة الجافة ، فإن قتل الميكروبات يحدث نتيجة لأكســـدة وتغـــير طبيعة مكوناتها الكيميائية . وتحتاج هذه الطريقة من التعقيم إلى وقت أطول ودرجة حرارة أعلى لقتل الميكروبات ، إذا ماقورنت بطريقة الحرارة الرطبة . فالقتل الحرارى أبطـــأ فـــى الـــهواء منه فى وجود البخار ، كما أن معدل موت الخلايا الجافة ، أقل بكثير من معدل مـــوت الخلايـــا الرطبة .

التعقيم بالحرارة الرطبة : Sterilization by moist – heat

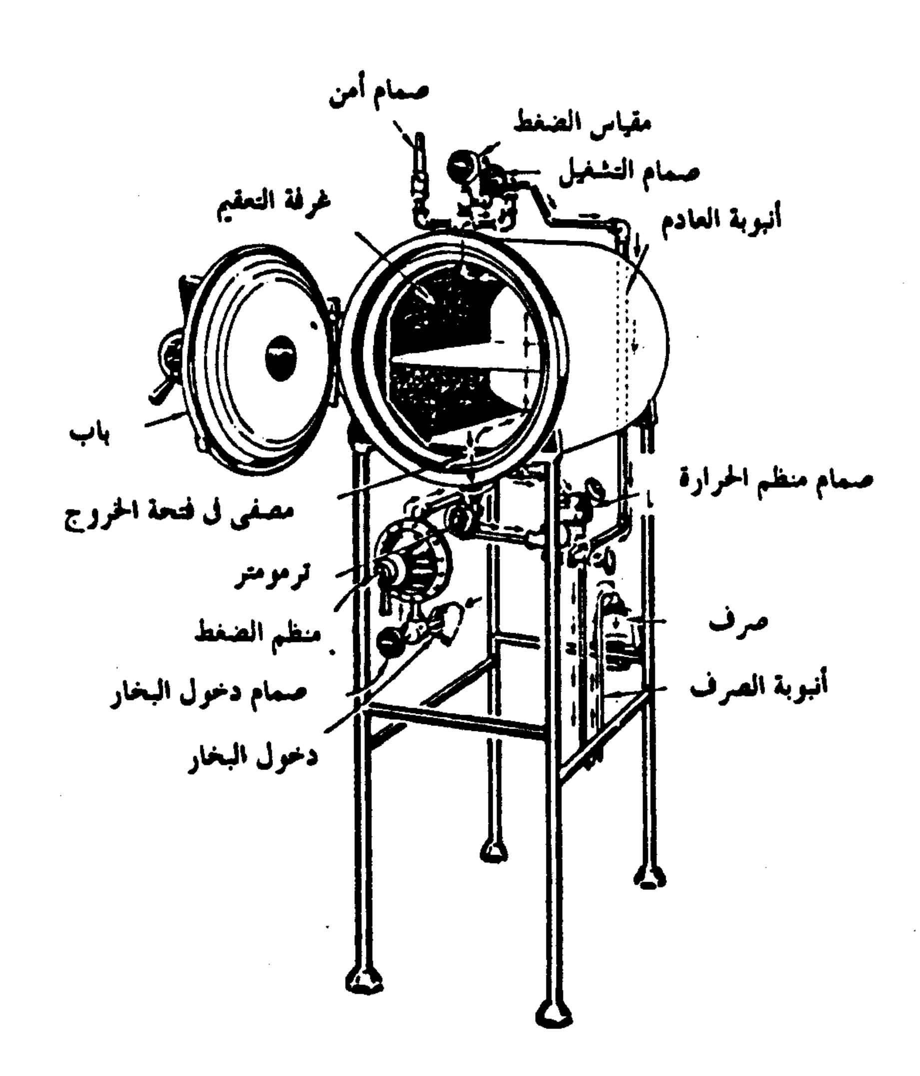
أولا : التعقيم بالبخار المضغوط : Steam under pressure

يستعمل فى هذه الطريقة ، جهاز المعقم بالبخار المضغوط ، المســـمى بـــالأوتوكلاف Autoclave ، وهو وعاء معدنى مزود بمقياس للضغط والحرارة وصمام الأمان ، والصمامـــات والوصلات الأخرى المناسبة (شكل ٣-١٢) .

يتم التعقيم فى الأوتوكلاف ، بالبخار المضغوط عند درجة أكبر مـــن ضغـــط الـــهواء الجوى ، وكلما ارتفع الضغط بالجهاز ، كلما إرتفعت درجة حرارة غليان المـــاء ، لذلـــك فـــان التعقيم يتم على درجة حرارة أعلى من درجة غليان الماء ، وعادة مايتم التعقيم بالجهاز ، عنـــد ضغط بخارى قدره ١٥ رطل/بوصة^{٢} ، حيث تعادل درجة حـــرارة البخـــار حوالـــى ١٢١°م ، وهى درجة كافية للقضاء على جراثيم البكتريا. ولكى نصل الى هذه الدرجة من الحرارة ، يجـــب أن يحل البخار المضغوط عند ضغط ١٥ رطل/بوصة^{٢} (حرارته حوالى ١٢١°م) ، محل الـــهواء الموجود بغرفة الأوتوكلاف ، لأن قتل الميكروبات لايعود إلى الضغط ، بل يعود الـــى درجـــة حرارة البخـــار ، وإذا لم يتـــم الإحلال الكامـــل للبخار مكان الهواء ، وبقـــى بعـــض الهـــواء

بالمعقم ، فإن الضغط الجزئى للبخار بغرفة المعقم ، سيكون أقل مما هو مبين على مقياس الضغط بالجهاز ، وبالتالى ستكون درجة الحرارة بالأوتوكلاف أقل من الدرجة المطلوبة . على سبيل المثال ، فإن درجة الحرارة ستكون ١٢١°م، إذا كانت غرفة الأوتوكلاف مملوءة تماما ببخار ضغطه ١٥ رطل/بوصة٢ ، بينما ستكون درجة الحرارة ١١٢°م فقط ، إذا كانت غرفة الأوتوكلاف بها غاز مخلوط ، بكمية مساوية من هواء ، له نفس ضغط البخار (١٥ رطل/بوصة٢) ، لذلك فان متابعة مقياس الضغط فقط يعتبر غير كافيا ، بل يجب متابعة قراءة ترمومتر الجهاز أيضا .

ملاحظة أخرى يجب أن توضع فى الاعتبار ، هى ضرورة تخلل البخار للمواد المطلوب تعقيمها ، وإلا فان كفاءة التعقيم ستقل ، وستعادل فى هذه الحالة ، عملية التعقيم بالحرارة الجافة ، التى تحتاج لحرارة أعلى ووقت أطول .



شكل ٣-١٢ : التركيب الأساسى للأوتوكلاف (المعقم بالبخار المضغوط) .

يستعمل الأوتوكلاف ، فى تعقيم البيئات ، والمحاليل والمـــواد الملوثـــة ، والمـزارع المطلوب التخلص منها ، والقفازات ، وأنابيب الكاوتش ، والملابس . وعادة ماتعقم هذه المواد ، على درجة ١٢١م (بخار ضغطه ١٥ رطل/بوصة٢) . أما الوقت اللازم للتعقيم ، فيتوقف علـــى طبيعة المادة المراد تعقيمها ، وحجمها ، ونوع الوعاء . على سبيل المثال ، فان تعقيـــم ١٠٠٠ أنبوبة ، يحتوى كل منها على ١٠ مل بيئة سائلة ، يتم خلال ١٥ دقيقة علـــى درجـــة ١٢١ م ، بينما تعقيم ١٠ لتر من نفس البيئة فى وعاء واحد ، يحتاج إلى ساعة على نفس درجة الحرارة .

الزيوت المعدنية ، والبترول ، والمواد الجافة كالرمل ، الموجودة فى أوعيـــة محكمـــة القفل ، لاتسمح بنفاذ الرطوبة بداخلها ، وعليه فإنه لايتم تعقيمها بكفاءة فى الأوتوكلاف ، ولذلـك فإن هذه المواد تعقم بكفاءة بالحرارة الجافة .

فى التعقيم بالحرارة الرطبة ، فإن قتل الميكروبات ، يحدث نتيجة تخـثر Coagulation بروتين الخلايا . والتعقيم بالحرارة الرطبة أسرع ، وأكثر كفاءة من التعقيم بـــالحرارة الجافـــة . فالرطوبة تسهل عملية تخثر البروتين ، والتى بدونـــها لايتخـــثر . بالاضافـــة الـــى أن البخـــار المضغوط ، يساعد على التسخين السريع ، وزيادة اختراق الحرارة للخلايا .

ثانيا : التعقيم المتقطع : Intermittent sterilization, Tyndallization

بعض المواد البيولوجية ، والمحاليل الكيميائية ، والبيئات : كالجيلاتين واللبن وبيئـــات الكربوهيدرات ، تتلف عند تعرضها لدرجات حرارة أعلى من ١٠٠°م ، لذلك فان هـــذه المـــواد تعقم فى جهاز أرنولد Arnold ، ويعرف أيضا باسم جهاز المعقم بالبخـــار غـــير المضغـــوط ، Steam sterilizer . وفى هذا الجهاز ، تعقم المادة بالحرارة الرطبة ، بتعريضها للبخـــار غـــير المضغوط (١٠٠°م) لمدة ٣٠ دقيقة لفترة ثلاثة أو أربعة أيام متعاقبة ، مع ترك فترة تحضيـــن مدتها ٢٤ ساعة بين كل تعقيمين .

ومن المعروف ، أن التعقيم فى اليوم الأول بجهاز أرنولد ، لايكفى للقضاء علـــى كـــل الجراثيم البكتيرية ، لذلك ، فان ترك فترة ٢٤ ساعة حضانه بعد كل تعقيم ، ستســـمح للجراثيـــم الناجية بالنمو ، وتكوين خلايا خضرية ، وفى التعقيمين أو الثلاثة التالية ، يتم القضاء عليها .

وإذا لم تنمو الجراثيم البكتيرية ، فى فترات التحضين بين كل تعقيمين ، فـــإن عمليـــة التعقيم تكون غير كاملة . ويحدث ذلك ، إذا كانت الحرارة أثناء فترة التحضيـــن ، أو ظـــروف البيئة أو المادة الجارى تعقيمها ، غير مناسبة لنمو الجراثيم ، وذلك كما فى حالة الماء المقطـــر ، وهو وسط غير مناسب للنمو ، وكما فى حالة جراثيم البكتريا اللاهوائية ، التى لاتنمو فى بيئـــة معرضة لأكسجين الهواء الجوى ، كما فى جهاز أرنولد . ونظرا لطول الفترة اللازمـــة للتعقيـــم بهذه الطريقة ، فإنها لاتعتبر مناسبة لمعظم الأغراض .

التعقيم بالترشيح : Sterilization by filteration

بعض المحاليل حساسة للحرارة ، فاذا عقمت بـــالحرارة ، تتغـــير صفاتـــها الطبيعيـــة والكيميائيـــة ، مثل بعض السكريـــات ، والسيروم ، والانزيمات ، والتوكسينات . ولتعقيم هـــذه

المواد ، إذا كانت سوائل أو موادا ذائبة فى محلول ، يستعمل الترشيح من خـــلال مرشـــحات ، قادرة على حجز الميكروبات .

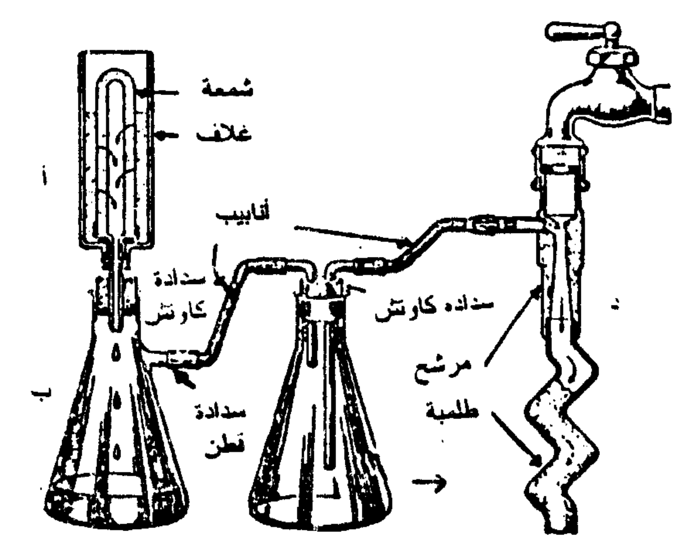
تحجز المرشحات ، الميكروبات من السائل ، ليس فقط بالتأثير الميكانيكى المماثل لعمل الغربال ، الناتج من حجز ثقوب المرشح الدقيقة للميكروبات ، ولكن أيضا ، وهذا هو الأغلـب ، بإدمصاص المرشح للميكروبات ، لاختـــلاف الشـحنات الكهربائيـــة بيـن المرشـــح وخلايـــا الميكروبات .

يتصل المرشح بزجاجة مرتبطة بمضخة تفريغ (فتصبح الزجاجة زجاجـــة تفريـــغ) ، فتمر السوائل من المرشح الى الزجاجة بتأثير خلخلة الضغط ، تاركة خلفها على المرشـــح كـل الميكروبات الملوثة . ويجب أن تعقم المرشحات بالحرارة (أو بوسائل مناسبة) قبل الاســتعمال ، حتى لايتلوث الراشح، مع الاحتياط من إعادة التلوث عند نقل المرشح الى إناء آخر .

المرشحات البكتريولوجية أنواع منها : الطينية ، والورقية ، والغشائية .

المرشحات الطينية والورقية : Clay and paper filters

المرشحات المصنوعة من الطين المنقـــى Purified clay ، **مثـــل مرشـــح سـيلاس** Selas ، أو من الخزف الدقيق غير المصقول Unglazed porcelain ، **مثل مرشح تشـلمبرلاند** Chamberland ، أو من الطين الديـــاتومى Diatomaceous earth ، **مثـــل مرشـــح بركفلـد** Berkefeld ، ومرشح ماندلر Mandler ، شائعة الاستعمال . وتصنع المرشحات فـــى شـــكل شمعة Candle ، مجوفة من الداخل ، ومقفولة من طرف واحد ، وتوضع على زجاجـــة تفريـــغ (شكل ٣-١٣) .



شكل ٣-١٣ : جهاز ترشيح ميكروبيولوجى

أ - شمعة مجوفة مـــن طيـــن مناســـب ، محاطه بالسائل المطلوب ترشـــيحه ، داخل غلاف .

ب ، جـــ - دوارق لاســتقبال الســـائل المرشح ، بتـــأثير طلمبـــة السحب " د " .

المرشحات الورقية عبارة عن سليلوز ، وتصنع كأقراص من ورق مضغوط ، أما باقى المرشـــحات (الطينيـــة ، الخزفيـــة ، ذات الزجـــاج المصنفـــر Sintered-glass filters ، أو الأسبستوس) فهى من مواد سليكونية ، والزجاج المصنفر ، هو زجـــاج مصـــهور ، ومصنـــع بطريقة مسامية ، كأقراص . ويصنـــع مرشـــح ســـايتس Seitz مـــن الأسبســـتوس Asbestos المضغوط، ويستعمل لمرة واحدة .

والثقوب Spores الموجودة بالمرشحات، ذات درجات مختلفة من السعة ، تتراوح مـــن واحـــد ميكرومتر إلى عدة ميكرومترات ، وذلك حسب درجة المرشح المســـتعمل . وهـــذه الســـعة ، بالإضافة الى شحنة الادمصاص التى على المرشح ، تسمح بحجز البكتريا ، ولكنـــها لاتســـمح بحجز الفيروسات .

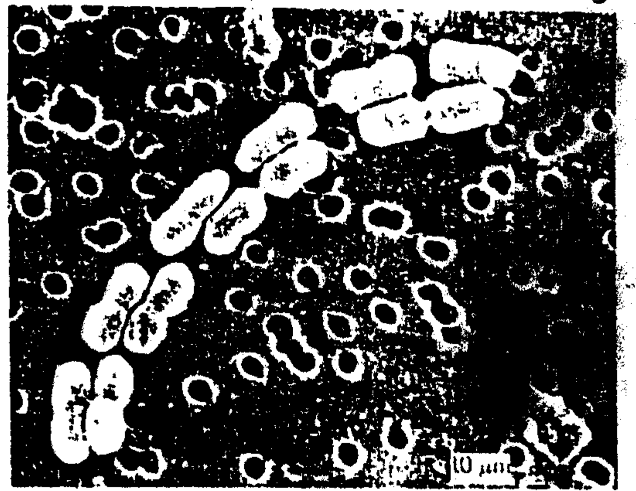
المرشحات الغشائية : Membrane filters

أمكن فى السنوات الأخيرة ، عمل مرشحات غشائية من الكلوديـــون Collodion ، أو من خلات السليلوز فى صورة أقراص (حوالى ٥٠ مم قطر و ٠,١ مم سمك) ، ومتوسط ســـعة ثقوبها حوالى ٠,٤٥ ميكرومتر ، وهى تكفى لحجز وإزالة البكتريا من المحلول .

ويوجد أيضا من هذه المرشحات الغشائية ، أنواع ذات ثقوب أصغر ، ســـعة ثقوبـــها تصل الى أقل من ٠,٠٠٥ ميكرومتر ، وهى تزيل بكفاءة الفيروسات ، والجزيئات الدقيقة جـــدا من السائل ، عند مروره من المرشح الغشائى .

تستعمل المرشحات الغشائية لمرة واحدة ، وهى تعتمد فى حجزها للميكروبات ، أساسـا على سعة ثقوبها ، أى على التأثير الميكانيكى المماثل لعمل الغربال ، وذلك بخلاف المرشـــحات السليلوزية والسليكونية التى تعتمد فى حجزها للميكروبات ، أساسا على الادمصاص .

وتستعمل المرشحات الغشائية بكثرة الآن فى الأعمال الميكروبيولوجية ، كما فى عـــد وتعريف الميكروبات الموجودة فى مياه الشرب (شكل ٣-١٤) ، كما توجد مرشـــحات غشـــائية قادرة على ترشيح آلاف اللترات ، تستعمل صناعيا لتعقيم المضادات الحيوية والسوائل .



شكل ٣-١٤ : بكتريا مياه بحر ، محجوزه على مرشح غشائى .

وقد أمكن باكتشاف المرشحات الهوائية عالية الكفاءة High-efficiency particulate air (HEPA) filters ، المصنعة من ألياف زجاجية Fiber glass ، الحصول على هواء نظيف.

وتستعمل هذه المرشحات الآن بكثرة ، مع أجهزة الهواء المتدفق فى مستويات متوازية المسماة Laminar air-flow ، لتوفير هواء خالى من الميكروبات والتراب ، داخل حيز مقفول ، وذلك لتأدية الأعمال الميكروبيولوجية ، التى تتطلب العمل فى جو معقم .

التعقيم بالكيماويات : Sterilization by chemicals

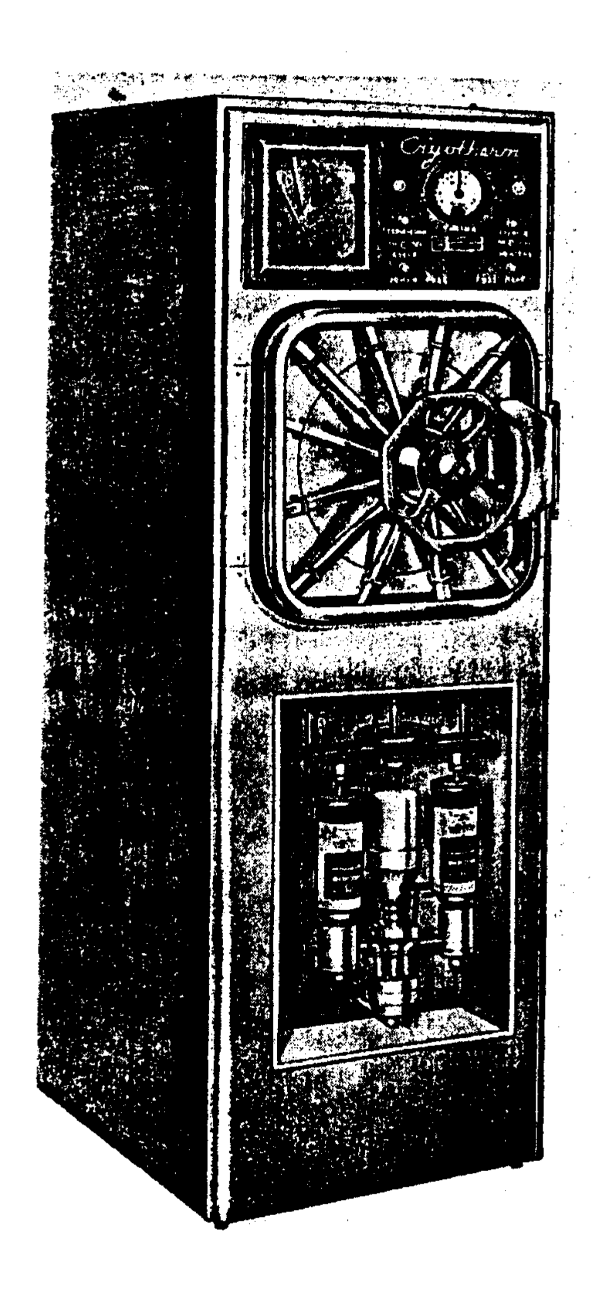
بعض المواد الطبية والمعملية ، التى تباع فى عبوات ، لايصلح الأوتوكلاف لتعقيمها، لأنها حساسة للحرارة والرطوبة ، من أمثلة هذه المواد : أجهزة نقل الدم ، الحقن والماصات وأطباق بترى البلاستيكية . وتعقم هذه المواد المعبأة ، بواسطة الكيماويات ، التى يشترط أن تكون كيماويات طيارة Volatile ، ليمكن التخلص منها بسهولة ، بعد التعقيم .

من الكيماويات المستعملة بيتا – بروبيولاكتون β-propiolactone ، والفورمالدهيد ، وغاز **الاثيلين** ، والأخير هو الأكثر استعمالا .

وقد أصبح استعمال أبخرة أكسيد الاثيلين المضغوط ، من طرق التعقيم الغازى ، الشائعة الاستعمال الآن ، فى المستشفيات والمصانع والمعامل . وأكسيد الاثيلين CH_2—CH_2 (O) يكون على صورة سائلة عند درجة حرارة أقل من ١٠,٨ °م (درجة غليانه) ، ويتحول الى أبخرة قابلة للأشتعال عند درجة حرارة أعلى من ذلك ، لذا يخلط أكسيد الاثيلين بنسبة ١٠% مع ٩٠% ثانى أكسيد الكربون ، أو يخلط مع غاز الفريون Dichloro difluoro methane, Freon ، ويباع فى أنابيب أو اسطوانات معدنية ككل الغازات المضغوطة .

غاز أكسيد الاثيلين غاز سام للإنسان ، وهو يستعمل مع الاحتياط ، فى أجهزة تشبه الأوتوكلاف ، معدله لتسمح بملأ غرفة التعقيم بالغاز ، وتسمح بالتحكم فى الضغط والحرارة والرطوبة وتركيز الغاز (شكل ٣–١٥) ، وهى العوامل التى تؤثر على المدة اللازمة للتعقيم . وعادة مايستعمل الغاز ، بنسبة ٥٠٠ مللجم غاز نقى لكل لتر من فراغ المعقم ، على درجة ٥٨°م ، و ٤٠% رطوبة نسبية لمدة ٤ ساعات، وإذا تغير عامل من هذه العوامل فإن العوامل الأخرى تتغير ، مثلا ، إذا ضوعف تركيز الغاز ، فإن زمن التعقيم يقل الى النصف .
ويمكن إضافة أكسيد الإثيلين كمحلول لتعقيم السوائل ، بتركيز ١% على درجة ٥ – ١٠°م ، وبعد عدة ساعات ، يمكن التخلص من الغاز ، بتسخين السائل على درجة ٣٧°م لمدة مناسبة .

أكسيد الاثيلين ، عامل قتل قوى ، فهو شديد السمية للفيروسات والبكتريا والفطر والجراثيم البكتيرية الشديدة المقاومة للحرارة ، بشرط أن لاتقل نسبة الرطوبة بالوسط عن ٥%. ويعود تأثيره القاتل إلى قدرته على إحلال مجموعات كيميائية ، محل ذرة الإيدروجين ، فى كل تركيبات بروتوبلازم الخلية ، خاصة الأحماض الأمينية ، والانزيمات المحتوية على مجموعة السلفهيدريل (SH) . والغاز عامل مؤكسد قوى ، وبالإضافة إلى ذلك ، فإن قدرة إختراقه للمواد عاليه .



شكل (٣-١٥) : جهاز التعقيم بغاز أكسيد الاثيلين

يوجد بأسفل الباب ، أوعية بها الغاز المضغوط ومدخل الماء ، مرتبة لتختلط ، ويخرج منها الغاز المرطب ببخار الماء ، ويدخل غرفة التعقيم .

وبأعلى الباب أجهزة التحكم فى الحرارة ، والوقت ، ودخول الغاز والرطوبة ، وطلمبة التفريغ .

والغاز سهل التداول بالأجهزة المناسبة ، ويسهل التخلص من الكميات المتبقية من الغاز بعد التعقيم بالتهوية ، أو بترك المادة المعقمة لفترة بعد التعقيم . وعلى عكس الكثير من الكيميائيات الأخرى القاتلة للميكروبات ، فإن الغاز لايسبب تآكلا ، ولايحدث ضررا للمواد المعقمة. غير أن من مساوئه ، أن استعماله فى التعقيم ، يحتاج إلى فترات تعريض طويلة ، تصل لعدة ساعات .

التعقيم بالإشعاع : Sterilization by radiation

يستعمل الآن الإشعاع فى عمليات التعقيم ، خاصة للمواد البيولوجية . وتعرف طريقة التعقيم بالإشعاع ، باسم التعقيم البارد Cold sterilization ، لأن درجة حرارة المواد المعرضة للإشعاع ، لاترتفع إلا قليلا . لذلك فإن التعقيم بالإشعاع ، يستعمل لتعقيم المواد الحساسة للحرارة ، كما فى الأغذية والمواد الصيدلانية .

ويستعمل فى التعقيم الأشعة فـوق البنفسجية ، وأشـعة جامـا ، وأشـعة الكـاثود (راجع موضوع الضوء والإشعاع بالباب الرابع ، الفصل الثانى) .

الأشعة فوق البنفسجية : Ultraviolet rays

الأشعة فوق البنفسجية ، هى أحد مكونات أشعة الشمس ، ويتراوح طولها الموجى بين ١٣٦ – ٤٠٠٠ A° ، غير أن الطول الموجي المستعمل عمليا ، كعامل قتل للميكروبـات هـو ٢٦٥٠ A° ، وهو الطول الموجى الذى يحدث عنده أقصى إمتصاص للأشعة بواسطة الأحماض النووية بالخلية ، ويسبب تلفها .

هذه الأشعة غير مؤينة ، أى ليس لها الطاقة الكافية ، على تـأيين جزيئـات المـادة . ويعود تأثيرها القاتل ، إلى أنها تمتـص بواسـطة الخليـة ، وتحـدث تغـيرات كيموضوئيـة Photochemical changes فى بروتوبلازم الخلية ، إذا تعرضت لها لمدة كافية ، فتسبب موتها. والأشعة قاتلة للخلايا الخضرية والجراثيم .

قدرة الأشعة فوق البنفسجية على الاختراق ضعيفة ، لذلـك فـإن تأثيرهـا التعقيمـى سطحى ، فالميكروبات التى تقتل ، هى تلك الموجودة على أسطح المواد المعرضة ، التى تقـع مباشرة تحت تأثير الأشعة ، بكمية ووقت كافيين ، ويراعى عند استعمال هذه الأشعة ، حمايـة العين والجلد من تأثيرها الضار .

وتستعمل لمبات خاصة لأنتاج هذه الأشعة ، مثل لمبات بخار الزئبق المصنوعـة مـن الكوارتز . وتستخدم فى المستشفيات لتعقيم غرف العمليات (الهواء والحوائـط والأرضيـات) ، وفى تعقيم الأغذية والمنتجات الصيدلانية .

التعقيم بأشعة جاما وأشعة الكاثود

اشعة جاما Gamma rays ، ذات موجات قصيرة يتراوح طولـها بيـن ٠,٠١ الـى ١,٤ A° ، مصدرها النظائر ذات النشاط الاشعاعى ، مثل كوبالت ٦٠ ، وسيزيوم ١٣٩ . وهـى أشعة ذات طاقة عالية ، مؤينه أى تستطيع أن تؤين جزيئات المادة ، أو الخلايا ، التى تتعـرض لها ، مسببة تلفها . وقدرة الأشعة على النفاذية كبير ، وهى قاتلة لجميع الميكروبات ، وتسـتعمل فى تعقيم الأغذية المعبأة ، والمواد الصيدلانية المغلفة على درجة حرارة الغرفـة ، مـع حفـظ المواد بحالتها بدون وضعها فى ثلاجة .

تستخدم أيضا أشعة الكاثود Cathode rays (أشعة المهبط) ، فى عملية التعقيم . وتنتـج هذه الأشعة ، عندما يقع تيار ذو جهد عالى بين الكاثود والأنود فى أنبوبة مفرغة ، فإن الكـاثود يبعث شعاعا من الالكترونات تسمى أشعة الكاثود ، أو الاشعاع الإلكترونى Electron beams . وتوجد أجهزة خاصة تسمى المعجلات Accelerators ، لتوليد الكترونات ذات قوة عالية (عـدة ملايين فولت) ، وهذه الالكترونات تعجل الى سرعات عاليـة ، لتسـتخدم فـى تعقيـم الأدوات الجراحية ، والأدوية . وباستخدام أشعة الكاثود ، يمكن أن تعقم المواد بعد تعبئتها ، بتعريضـها للأشعة لفترات قصيرة على درجة حرارة الغرفة . ويعاب على استعمال أشعة الكـاثود ، أنـها مكلفة ، وقد تحدث تغيرات غير مرغوب فيها بالأغذية المعاملة .

وجدول (٣-٣) يبين الجرعة القاتلة Lethal dose للإشعاعات المختلفة .

جدول ٣-٣ : الجرعة (بالمليون راد Rad) القاتلة للإشعاعات المختلفة .

نوع الميكروب	أشعة كاثود	أشعة جاما من كوبالت ٦٠	اشعة X من مصدر ٣ ميجا فولت
خلايا خضرية	٠,١ – ٠,٢٥	٠,١٥ – ٠.٢٥	٠,١ – ٠,٥
جراثيم بكتيرية	٠,٢ – ٠,٤	١,٥	٠,٥ – ٢,٠
فطريـــــات	٠,٣ – ٠.٤	٠,٢ – ٠,٣	٠,٢٥ – ١.٠
خمائـــــــر	٠,٣	٠,٣	٠,٢٥ – ١.٥

From : Pelczar M.J.Jr.; E.C.S. Chan and N.R. Krieg (1986). Microbiology, 5th Ed. Mc Graw-Hill, New York.

ويمكن تلخيص الاستخدامات المفضلة ومحددات الاستعمال والطرق المتبعة فى التعقيم أو إزالـــة الميكروبات فى جدول (٣-٤) التالى

جدول ٣-٤ : مقارنة بين الطرق المستخدمة في التعقيم أو إزالة الميكروبات .

الطريقـــة	الاستخدامات المفضلة	محددات الاستعمال
الغسيل	الأيدى ، الجلد ، الملابس	لايحدث تعقيم ، بل تقليل لأعداد الميكروبات
اللهب	تعقيم ابر التلقيح ، الشرائح ، فوهات الأنابيب	يصلح فقط للمواد التى تتحمل اللهب حتى الإحمرار
الحريق حتى الرماد (الترميد)	التخلص نهائيا من المواد الملوثة	عدم وجود أفران مناسبة ، حدوث تلوث بالهواء
الحرارة الجافة (معقم الهواء الساخن)	تعقيم المواد غير المنفذه للرطوبة ، أو التى تتلف بالرطوبة ، مثل المواد الصلبة، الزجاج ، المعادن ،الزيوت	تلف المواد التى لاتتحمل الحرارة العالية لفترة طويلة
الحرارة الرطبة غليان	قتل الميكروبات غير المتجرثمة	بقاء الجراثيم البكتيرية
بخار بدون ضغط (جهاز أرنولد)	تعقيم البيئات ، الأطباق ، الملابس	عدم ضمان تحقيق التعقيم مـــن أول تعرض للحرارة ، تحتاج لفترة طويلة تصل لعدة أيام (تعقيم متقطع)
بخار مضغوط (الأوتوكلاف)	تعقيم الموائل ، البيئات ، الأدوات ، الملابس	لاتصلح للمواد الحساسة للحرارة أو غير المنفذة للبخار

تابع جدول ٣-٤ :

الطريقـــة	الاستخدامات المفضلة	محددات الاستعمال
الترشيح المرشحات الطينية والورقية	إزالة البكتريا من السوائل البيولوجية الحساسة للحرارة	لاتحجز الفيروسات
المرشحات الغشائية	تعقيم السوائل البيولوجية الحساسة للحرارة	يجب خلو السوائل من المواد المعلقة
الألياف الزجاجية (HEPA)	تعقيم الهواء	غالية الثمن
الغازات/أكسيد الإثيلين	تعقيم المواد الحساسة للحرارة والرطوبة	الغاز قابل للاشتعال وسام للإنسان يحتاج لفترة تعرض طويلة
الاشعاع الأشعة فوق البنفسجية	تعقيم سطوح المواد وغرف العمليات	يجب أن تمتص لتكون مؤثرة ، لاتنفذ من الزجاج ، ضارة للعين والجلد
أشعة جاما والكاثود	تعقيم الأدوات الجراحية ، والمواد الطبية الحساسة للحرارة	مكلفة ، وتحتاج تجهيزات خاصة

Referecnes **مراجع الباب الثالث**

Block, S.S. (ed.) (1983). Disinfection, Sterilization and Preservation 3rd Ed. Lea & Fabiger, Philadelphia.

Casartelli, J.D. (1992). Microscopy for Students. Mc Graw-Hill Book Co. Inc., New York.

Clark, G. (1973). Scanning Procedures. 3rd Ed., Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, USA.

Difco Manual (1992). Dehydrated Cultures, Media and Reagents. Difco Laboratories, Detroit, USA.

Gerhardt, P.; R.G.E. Murray; R.N. Costilow; E.W. Nester; W.A. Wood; N.R. Krieg and G.B. Phillips (eds.), 1981. Manual and Methods for General Bacteriology. Amer. Soc. Microbiol, Washington, D.C.

Harrigan, W.F. and Margaret E. Mc Cance (1976). Laboratory Methods in Microbiology. Academic Press, New York.

Hugo, W.B. (ed.) (1971). Inhibition and Destruction of the Microbial Cell. Academic Press, New York.

Salle, A.J. (1961). Fundamental Principles of Bacteriology. 5th Ed. Mc Graw-Hill Book Co., Inc., New York.

Seeley, H.W. Jr. and P.V. Van Demark (1981). Microbes in Action. A Laboratory Manual of Microbiology. 3rd Ed. Freeman & Co., New York.

الكائنات الدقيقة .. عمليا . تأليف سيلى وفان ديمارك ، ترجمة سعد على زكى محمود ، عبد الوهاب محمد عبد الحافظ ، محمد الصاوى محمد مبارك (١٩٨٩) – الدار العربية للنشر والتوزيع – مدينة نصر – القاهرة .

﴿الباب الرابع﴾

العوامل المتحكمة فى نشاط الميكروبات

المحتويـــات

«الباب الرابع»

العوامل المتحكمة فى نشاط الميكروبات
Factors Controlling Microbial Activities

مقدمـــــة

يؤثر فى نمو ونشاط الكائنات الدقيقة ، ويتحكم فيها ، العوامل الطبيعيـــــة والكيميائيـــة والبيولوجية المحيطة بها ، مثلها فى ذلك مثل أى كائن حى اخر . وعلى ذلك ، فإن حدوث تغـير ملحوظ فى هذه العوامل ، يسبب تغيرا فى خواص ونشاط الكائنات الدقيقة . وبمعرفـــة الأســس والعوامل التى تتحكم فى نمو ونشاط الكائنات الدقيقة ، فإننا نستطيع أن نتحكم فى تلك الكائنـات ، بزيادة نشاط الكائنات المفيدة ، أو بمنع أو بتأخير نمو الكائنات غير المرغوب فيــها ، أو حتـــى التخلص منها نهائيا .

ويجب أن نضع فى اعتبارنا أن الكائنات الدقيقة ، حتـــى وهـــى فـــى حالـــة الخلايـــا الخضرية ، تتميز بقدرتها الكبيرة على مقاومة التغيرات التى تحدث بالوسط ، وبسرعة مواءمتها مع الظروف الجديدة ، وفى هذا المجال ، فإن الميكروبات تختلف كثيرا عن الأحيـــاء الأخـــرى عديدة الخلايا النباتية والحيوانية . وبالإضافة إلى ذلك ، فإن بعض الكائنات الدقيقة قـــادرة علـــى تكوين الجراثيم ، التى تمتاز بمقاومتها للظروف السيئة ، حتى عن الخلايا الخضرية التى نتجـت منها .

وسنتكلم فيما يلى عن الأسس الخاصة بالتحكم فى الميكروبات ، وأهم العوامل الطبيعيـة ، والكيميائية ، والكيميائيات العلاجية ، والمضادات الحيوية ، التى تؤثـــر علـــى نمـــو ونشـــاط الكائنات الدقيقة ، وعلى التحكم فيها ، علما بأن تقسيم هذه العوامل الى تلـــك المســميات ، هـــو تقسيم افتراضى ، فقد يتداخل مع العامل الأصلى عامل أو أكثر من العوامـــــل الأخـــرى ، فـــى إحداث التأثير على الكائن الحى .

﴿الباب الرابع – الفصل الأول﴾

الأسس الخاصة بالتحكم فى الميكروبات

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة

«الباب الرابع - الفصل الأول»

الأسس الخاصة بالتحكم فى الميكروبات

Fundamentals of Microbial Control

التحكم فى الميكروبات ، للإستفادة منها أو لتجنب آثارها ، عملية هامة من الناحية التطبيقية . ويقصد بكلمة التحكم Control ، إزالة الميكروبات ، أو إيقاف نموها ، أو قتلها والتخلص منها نهائيا .

أهمية التحكم فى الميكروبات

يمكن تلخيص الأسباب الرئيسية ، التى تتطلب التحكم فى الميكروبات ، لتجنب أضرارها ، فيما يلى

- منع إنتقال الميكروبات المرضية وحدوث العدوى .
- التخلص من الميكروبات الموجودة بالعائل المصاب ، سواء أكان نباتا أو حيوانا أو إنسانا .
- منع الفساد الميكروبى للمواد المختلفة ، لتجنب تلفها .
- منع تلوث المزارع النقية والمواد المستخدمة فى البحوث ، أو التشخيص ، أو الصناعة .

يمكن إزالة الميكروبات ، أو إيقاف نموها ، أو قتلها ، بعوامل طبيعية أو كيميائية . ويستعمل لذلك طرقا متنوعة ، ومواداً عديدة ، والتى لكل منها تأثيره الخاص ، والحدود التطبيقية الخاصة به التى تحدد استعماله .

والعوامل الطبيعية Physical agents ، هى عوامل قادرة بخواصها الطبيعية ، على إحداث تغيير فى الوسط ، ومن أمثلة ذلك الحرارة ، والحرارة تحت ضغط ، والاشعاع ، التى تسبب التعقيم أو التطهير ، أما العوامل الكيميائية Chemical agents ، فهى مواد ، صلبة أو سائلة أو غازية ، لها تركيب جزيئى محدد ، وتحدث تفاعلات ، ومن أمثلتها ، مركبات الفينول، الكحول ، الكلور ، أكسيد الاثيلين ، التى تسبب قتل الميكروبات ، أو إيقاف نموها .

والعوامل التى تتحكم فى الميكروبات ، سواء أكانت طبيعية أو كيميائية ، قد تؤثر على الخلايا بأكثر من طريقة . فقد تكون مهلكة للميكروبات إذا استعملت بتركيز عالى أو لفترات طويلة ، وقد تكون موقفة للنمو فقط ، إذا استعملت بتركيز منخفض ، أو لفترات قصيرة ، أو قد تحدث أكثر من تفاعل كيميائى ، فتسبب تغيرا فى طبيعة البروتين الميكروبى ، أو تخثره فى بعض الأحوال ، أو تحدث أكسدة لبعض مكونات الخلية ، أو تسبب أكثر من تأثير فى حالات أخرى . لذلك ، فليس هناك حد فاصل بين طرق التأثير المختلفة .

تعريف بعض المصطلحات : Definition of terms

عند التعرض لموضوع التحكم فى الميكروبات ، تستعمل بعض المصطلحات ، لوصف تأثير العوامل الطبيعية أو الكيميائية على الميكروبات . ولهذه المصطلحات أهميتها ، خصوصا عند وصف المواد العلاجية والكيميائيات المستعملة ضد الميكروبات . وهنا ، فإنه يجب على كل من المنتج والمستهلك ، الفهم الدقيق لكل مصطلح منعا من التداخل .

التعقيم : Sterilization

التعقيم هو عملية الإبادة الكاملة لجميع الكائنات الحية ، فالتعقيم يؤدى إلى القضاء على كل صور الحياة الموجودة فى مادة ما . والشيء المعقم ، بالمفهوم الميكروبيولوجى ، هو الشيء الخالى تماما من الكائنات الحية الدقيقة ، فالشيء إما أن يكون معقما Sterile ، أو غير معقما Non-sterile ، ولايمكن لهذا الشيء أن يكون نصف معقم ، أو معقما بالتقريب .

ومن أمثلة العوامل المستخدمة فى التعقيم ، البخار تحت ضغط .

عامل مهلك للميكروبات الخضرية : Disinfectant

هذا العامل ، غالبا عامل كيميائى ، وهو يقتل الخلايا الخضرية ، وليس من الضرورى أن يكون قاتلا للجراثيم . ويستعمل هذا المصطلح عادة ، للمواد المستعملة فى تطهير الأشياء غير الحية مما بها من ميكروبات مرضية .

وبنفس المعنى ، فإنه عند الكلام عن الميكروبات بصفة عامة ، وليست المرضية فقط ، فغالبا ما يستعمل تعبير Microbicide or Germicide بدلا من Disinfectant . وعلى نفس المستوى ، يُستعمل Bactericide للتعبير عن العامل المسبب لقتل البكتريا الخضرية ، وكذلك يستعمل تعبير Algicide ، Fungicide ، Viricide ، Sporicide ... للتعبير على التوالى ، عن العوامل القاتلة للطحالب ، والفطريات ، والفيروسات ، والجراثيم .

من أمثلة المواد المهلكة للميكروبات : الحرارة المرتفعة ، أشعة إكس ، الفينول ، كلوريد الزئبقيك .

عامل موقف للنمو الميكروبى : Microbistatic

هذا العامل ، هو مادة توقف نمو الميكروبات ، دون أن تقتلها ، وبنفس المعنى تستعمل كلمات Bacteriostatic ، Fungistatic ، Algistatic ، Viristatic ، للتعبير على التوالى عن العوامل الموقفة لنمو البكتريا ، والفطريات ، والطحالب ، والفيروسات .

والعوامل التى لها القدرة على إيقاف نمو الأنواع المختلفة من الكائنات الدقيقة ، تسمى مجتمعة عوامل موقفة للنمو الميكروبى Microbistatic agents .

ومن أمثلة هذه المواد الموقفة للنمو : الحرارة المنخفضة ، التجفيف ، الأسموزية العالية ، الصبغات ، مركبات السلفا .

مطهـــر : Antiseptic

المطهر هو مادة تمنع التلوث ، والمطهر يمنع نمو الميكربات الملوثة ، أما بقتلــها ، أو بايقاف نموها ، ومنع نشاطها . وعادة ما يستعمل هذا المصطلح للمواد المستخدمة فــى تطــهير الأجسام الحية .

ومن أمثلة هذه المواد الكحول ، والبرمنجنات .

عامل صحى ، عامل منظف : Sanitizer

هذا العامل غالبا مادة كيميائية ، وهو عامل يقلل من عدد الميكروبات الموجــودة فــى مادة ما ، إلى العدد الذى تسمح به القوانين الصحية . وغالبا ماتصل نسبة الخلايــا المقتولــة أو المزالة بالعامل الصحى ، إلى ٩٩,٩% من البكتريا النامية .

ويستعمل هذا المصطلح عادة ، للتعبير عن المواد المستعملة فى تنظيف الأشياء غــير الحية ، المستخدمة فى المأكل والمشرب ، مثل أدوات ومعــدات مصــانع الأغذيــة والألبــان والمطاعم ، مما بها من ميكروبات .

ومن أمثلة هذه المواد مركبات الأمونيوم الرباعية ، والمنظفات .

عامل مضاد للميكروبات : Antimicrobial agent

يشير هذا التعبير بصفة عامة ، إلى العامل الذى يتداخل مع النمو والنشــاط الأيضــى للميكروب . وفى الإستعمال الدارج ، فإن هذا التعبير يستعمل عادة للإشارة إلى العــامل الــذى يوقف نمو الميكروب . وعند الإشارة إلى عوامل موقفة لنمو مجموعة معينة من الميكروبــات ، فاننا نستعمل الاصطلاح المناسب فى كل حالة ، مثل Antibacterial agent للإشارة إلى العامل الموقف لنمو البكتريا ، و Antifungal agent للعامل الموقف لنمو الفطر ، وهكذا .

يستعمل بتخصص بعض المواد المضادة للميكروبات ، لعلاج الأمــراض المعديــة ، وتسمى فى هذه الحالة ، بالمواد العلاجية Therapeutic agents ، وهذه المواد تقتل المســببات المرضية وهى داخل أنسجة العائل .

وفى الصفحات التالية ، فإنه لتبسيط العرض ، سنســتعمل تعبــير ، **عــامل مضــاد للميكروبات** ، كبديل لأى مصطلح من المصطلحات السابقة ، وذلك عند الإشارة إلى أى عــامل طبيعى أو كيميائى يزيل ، أو يوقف نمو ، أو يقتل الميكروب .

الظروف المؤثرة على دور العوامل المضادة للميكروبات

Conditions influencing antimicrobial action

يتأثر معدل ايقاف نمو الميكروبات أو قتلها ، نتيجة استعمال العوامل المضــادة لــها ، بعوامل عديدة . وهذه العوامل يجب أن توضع فى الإعتبار ، عند التطبيق العملى للتحكــم فــى الميكروبات .

من هذه العوامل

١- العامل المضاد للميكروبات

يختلف المضاد الميكروبى المستخدم ، سواء أكان عاملاً طبيعيا أو كيميائيا ، فى تـأثيره على الميكروبات بإختلاف نوع العامل ، ودرجة تركيزه ، وزمن التعرض له .

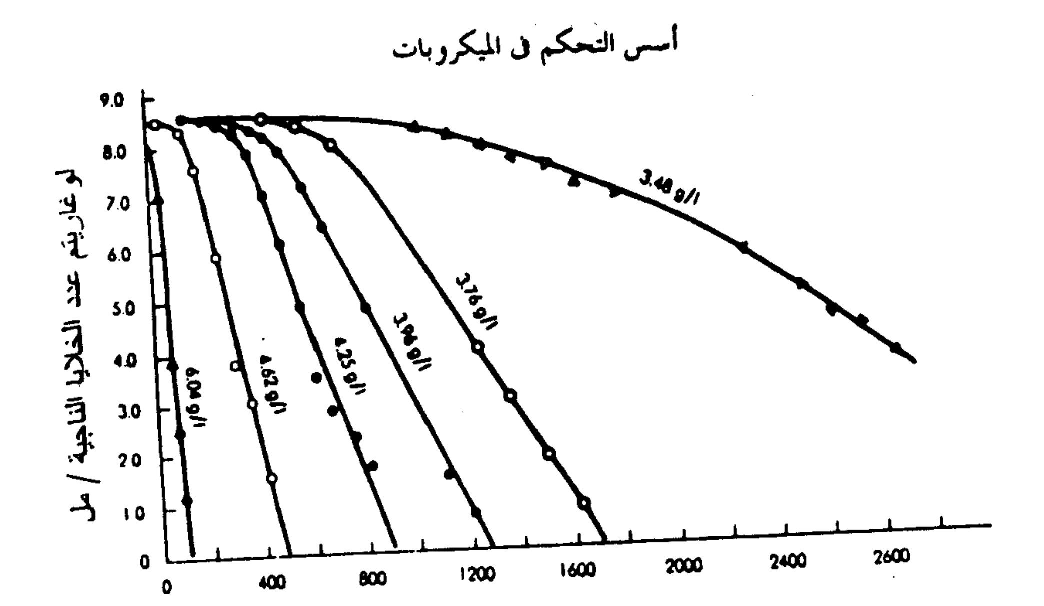
فمن العوامل ماهو شديد التأثير ، ومنها ماهو موقف للنمو فقط . ومنها ماقد يكون على درجة عالية من التخصص ، بحيث يوقف خطوة معينة من خطوات أحد التفاعلات الحيوية داخل الخلية ، كما يحدث عندما يوقف الكلور عمل إنزيم Triose phosphate dehydrogenase . أو أن يكون العامل أقل تخصصا ، عندما يمكنه إحباط عدد من التفاعلات فى وقت واحـــد ، كمــا يحدث عند تخثر البروتين الخلوى بتأثير المعادن الثقيلة .

ولكى يكون العامل المستخدم فعالاً على مكونات الخلية الداخليـــة ، مــن سـيتوبلازم وإنزيمات ومادة نووية ، فإنه يجب أن يكون قادرا على النفاذ إلى داخل الخلية ، حتى يســتطيع أن يحدث تأثيره على مكوناتها الداخلية .

ومن حيث التركيز ، فلكل مضاد ميكروبـــى ، طبيعـــى أو كيميـائى ، نطـاق مــن التركيزات ، يتراوح بين التركيز غير الفعال Ineffective (أى التـــأثير غــير الضــار عنــد التركيزات المنخفضة جدا) ، والتركيز المميت Lethal ، ويقع بين هذين التركيزين ، التركـــيز الموقف للنمو . وفى هذا النطاق الواقع مابين التركيز غير الفعال ، الى التركيز المميت ، فإنـــه كلما زاد التركيز ، كلما زادت سرعة قتل الميكروبات . ويقع أيضا بين التركيز غـــير الفعــال والتركيز الموقف للنمو ، تأثير منشط فى حدود ضيقة بالنسبة لبعض لمواد .

يوضح شكل [٤ (١) -١] العلاقة بين زيادة تركيز الفينــول وعــدد خلايــا البكتريــا الناجية ، وزمن القتل . وعلى سبيل المثال ، فعند تركيز ٤,٢٥ فينول جم/لتر ، تموت الخلايـــا بعد ١٣ ساعة ، بينما يتم الموت عند تركيز ٦,٠٤ جم/لتر ، بعد ١,٥ ساعة ، وهذا يؤيد مــاذكر سابقا بأن زيادة تركيز العامل المضاد ، يزيد من سرعة قتل الميكروبات .

ويختلف تأثير العامل المضاد بالنسبة لأنواع الميكروبات ، فالمادة الواحـــدة بتركـــيز معين ، قد تكون مهلكة لنوع ما من البكتريا مثلاً ، بينما نفس تركيز هذه المادة ، قد يكون مــادة غذائية لنوع اخر من البكتريا . فمثلاً كبريتور الايدروجين وأول أكسيد الكربون ، مــن المــواد الكيميائية السامة للبكتريا الهوائية ، لتثبيطهما لإنزيمات التنفس ، بينما بكتريا أخـــرى تســتعمل نفس المادتين السابقتين كمصدر للطاقة . لذلك ، فإنه عند التحدث عن تأثير العــامل المضــاد ، يجب تحديد الميكروب المتأثر .



شكل ٤ (١) -١ : تأثير تركيزات مختلفة من الفينول على سرعة قتل *E. coli* عند درجة ٣٥°م . لاحظ أن زيادة تركيز العامل المضاد تزيد من سرعة قتل البكتريا

From, Pelczar and Chan, 1981

يعتبر زمن التعرض للعامل المضاد أيضا ، من العوامل الهامة المؤثرة . فالعامل المضاد لايؤثر على الميكروبات الموجودة بالوسط بمجرد الإضافة ، بل يحتاج إلى فترة كافية من الزمن ، حتى يلتصق أو ينفذ بالميكروبات ، ويحدث التفاعل الطبيعى أو الكيميائى المطلوب. ويعتمد الوقت الكافى لإحداث الأثر المطلوب ، على عوامل عديدة منها طبيعة العامل المضاد وتركيزه ، وظروف الوسط من رطوبة وحرارة وحموضة ، وطبيعة الميكروب وكثافته العددية.

٢- الميكروب

كلما زاد عدد الميكروبات بالوسط ، كلما إحتاج ذلك إلى تركيز أكبر من العامل المضاد ، ومدة أطول للتعرض له ، لإيقاف نشاط هذه الميكروبات ، أو قتلها .

وبالنسبة لنوع الميكروب ، فإنها تختلف فى مدى حساسيتها للعامل المضاد ، فبعضها حساس سريع التأثر مثل بكتريا السيلان ، والبعض الآخر مقاوم مثل بكتريا السل ، ونجد عادة أن البكتريا الموجبة لجرام حساسة للبنسلين ، بينما السالبة مقاومة له .

ولعمر الميكروب ، وظروف نموه التى تسبق المعاملة ، تأثير على عمل العامل المضاد للميكروب . فالخلايا حديثة العمر ، أى التى فى بداية الطور اللوغاريتمى للنمو ، غالبا ماتكون أسهل فى القتل ، من مثيلتها التى وصلت إلى حد الثبات الأقصى للنمو . كما أن الميكروبات التى تنمو فى بيئة ، تحت ظروف نمو مثلى ، تكون أكثر مقاومة للعامل المضاد عن غيرها .

كما أن طبيعة الميكروب عامل مؤثر . فالخلايا ذات العلبة (الكابسول) أكثر مقاومة للعامل المضاد من مثيلتها عديمة العلبة . وكذلك ، فإن الجراثيم أكثر مقاومة من خلاياها الخضرية . وفى هذا الخصوص ، فإن جراثيم البكتريا ، تعتبر أكثر الأحياء مقاومة ، للظروف

السيئة ، الطبيعية والكيميائية ، ويوضح جدول [٤ (١) -١] مقاومة بعض الميكروبات لبعض العوامل الطبيعية والكيميائية .

جدول ٤ (١)-١* : مقاومة بعض الجراثيم الميكروبية والفيروسات للعوامل المضادة للميكروبات، بالمقارنة ببكتريا القولون المأخوذة كوحدة قياس .

عامل التعقيم	*E. coli* متخذة كوحدة قياس	جراثيم بكتريا	جراثيم فطر	فيروسات وبكتريوفاج
فينـــول	١	١٠٠ مليون	١-٢	٣٠
حرارة جافة	١	ألف	٢-١٠	١
حرارة رطبة	١	٣ مليون	٢-١٠	١-٥
أشعة فوق بنفسجية	١	٢-٥	٥-١٠٠	٥-١٠

*** From, Pelczar and Chan, 1981.**

٣ - الوسط الموجود به الميكروب

مكونات الوسط عامل مؤثر أيضا على العامل المضاد للميكروبات . فبعض هذه العوامل ، مثل الفينول ، والهالوجينات والأحماض .... تتأثر بوجود المواد العضوية . لذلك ، فإن وجود كميات كبيرة من المواد العضوية ، بالوسط الموجود به الميكروب ، يقلل من تأثير العامل الكيميائى المستعمل كمضاد ، وذلك بالإتحاد بالعامل المضاد ، أو بترسيبه ، أو بتغليف الميكروب وحمايته من تأثير العامل المضاد . على سبيل المثال ، فإن وجود الدم أو السيروم فى المادة المعاملة بالعامل المضاد ، يقلل من تأثيرالعامل المضاد على الميكروبات ، كما أن وجود المواد العضوية فى المياه المعاملة بالكلور ، يقلل من تأثير الكلور على قتل الميكروبات الموجودة بالمياه .

كما تتأثر كفاءة العامل المضاد المستخدم ، بالعوامل البيئية المتعلقة بالوسط الموجود به الميكروب من رطوبة ، وحرارة ، وحموضة ... الخ . فزيادة الرطوبة ، وزيادة الحرارة ، وزيادة الحموضة أو القلوية ، وانخفاض الجذب السطحى ، يزيد من كفاءة العامل المضاد للميكروبات ، بينما زيادة اللزوجة يقلل من كفاءته والعكس صحيح . ونلاحظ على سبيل المثال ، بأنه فى حالة التعليب المنزلى ، تعامل الأغذية الحامضية المعلبة ، مثل صلصة الطماطم ، على درجة حرارة أقل ولفترة أقصر (١٠٠°م لمدة ١٥ ق) ، عن الأغذية غير الحامضية ، مثل الفاصوليا (١١٥°م لمدة ٢٥ ق فى حلة ضغط) ، لأن الحموضة فى الحالة الأولى تزيد من كفاءة المعاملة الحرارية فى التعقيم . وسنستعرض هذه العوامل البيئية تفصيلاً فى صفحات قادمة ، بالفصل الثانى والثالث من الباب الرابع .

طرق تأثير العوامل المضادة للميكروبات : Mode of action of antimicrobial agents

العوامل المضادة للميكروبات متعددة ، وهى تؤثر على الميكروبات بطرق مختلفة . ومعرفة الطريقة ، التى يوقف بها العامل المضاد نمو الميكروب ، أو التى بها يقتله ، مفيد فى التطبيقات العملية ، لمعرفة الظروف المناسبة للإستعمال ، وأنواع الميكروبات التى تتأثر ، والتخطيط لانتاج مضادات ميكروبية جديدة ، أشد تأثيرا .

ويحدث التأثير المضاد للميكروبات ، بطرق متعددة ، منها

١- التأثير الميكانيكى

ويتم ذلك عندما يستعمل الصابون والمنظفات فى غسيل الأيدى والملابس والأدوات ، فهذه المواد المنظفة تقلل من الجذب السطحى للماء ، فتعمل على إزالة الميكروبات بطريقة ميكانيكية .

كما أن تهوية الحجرات ، وترشيح السوائل بالطرق المناسبة ، يؤدى إلى الإزالة الميكانيكية للميكروبات .

٢ - التأثير الطبيعى

ويحدث ذلك عند استعمال الحرارة الجافة ، والحرارة الرطبة تحت ضغط ، والإشعاع ... الخ . وهذه العوامل ، قادرة بخواصها الطبيعية ، على إحداث تغيير بالميكروب أو بأحد مكوناته ، مما يؤدى إلى إيقاف نموه أو إلى قتله .

٣ - التأثير الكيميائى

ويحدث ذلك عند استعمال بعض المواد الكيميائية كالصودا الكاوية ، والفينول ، وغاز الاثيلين ... الخ . وهذه المواد قادرة على إحداث تفاعلات بمكونات الخلية الميكروبية ، تسبب لها الضرر .

٤- التأثير الحيوى

ويحدث ذلك فى حالة التضاد ، عندما يقوم كائن حى بإفراز مضاد ، يوقف نمو أو يقتل ، كائنا آخر ، مثل مضاد البنسلين الذى يفرزه فطر *Penicillium chrysogenum* ، ويضاد البكتريا العنقودية *Staphylococcus aureus* .

أنواع التفاعلات التى تحدث بتأثير العامل المضاد

يؤثر العامل المضاد على الميكروبات ، كما سبق القول ، بعدة طرق ، منها الميكانيكية ، والطبيعية ، والكيميائية ، والحيوية . ونتيجة لأى من هذه التأثيرات يحدث لمكونات الخلية الميكروبية ، تفاعلا أو أكثر ، من التفاعلات الطبيعية أو الكيميائية ، التى تؤثر على نمو ونشاط الميكروب .

ومن هذه التفاعلات

١ - تخثر البروتين وتغير طبيعته : Coagulation and denaturation of protein

تسبب الحرارة المرتفعة ، أو إضافة الأحماض أو بعض الكيميائيات (مثل الفينول والكحول ، أو المعادن الثقيلة) ، تلف البروتين الخلوى والانزيمى ، إما بتخثره Coagulation ، أى بتحول البروتين من الحالة السائلة إلى الحالة الصلبة ، أو بإحداث تغير فى طبيعه البروتين Denaturation ، حيث تتفكك روابط الإيدروجين وروابط الكبريتيد الموجودة بالبروتين والأحماض النووية ، فيفقد جزىء البروتين طبيعته الأصلية ، دون حدوث تغير فى تركيبه الكيميائى ، ولكن يتوقف عن القيام بوظائفه .

ونتيجة لتلف البروتين والإنزيمات والقواعد النتروجينية ، بالتخثر أو بالتغير فى طبيعة البروتين ، فإن الخلية الميكروبية تموت .

قد يحدث الارتباط بين العامل الكيميائى المضاد ، وبين مجاميع السلفا هيدريل الموجودة على جزيئات البروتين الإنزيمى ، كما يحدث عند استخدام مركبات الزئبق والزرنيخ .

وقد يحدث الارتباط بالمجاميع المتعادلة القاعدية بالبروتين ، مثل مجاميع الأمين ومجاميع الهيدروكسيل ومجاميع الإيميدازول Imidazole ، كما يحدث عند استخدام الصابون الأنيونى والفورمالدهيد والصبغات الحامضية .

وقد يتم الارتباط بالمجاميع المتعادلة الحامضية ، مثل مجاميع الكربوكسيل وبقايا حامض الفوسفوريك ، كما يحدث عند استخدام الصابون الكاتيونى والصبغات القاعدية .

٢- تكون أملاح بروتينية

عند إضافة بعض المعادن الثقيلة ، مثل كلوريد الزئبقيك أو نترات الفضة أو كبريتات النحاس ، أو الرصاص والكادميوم والزرنيخ ... الخ ، إلى مزرعة ميكروبية تتكون أملاح البروتين (بروتينات المعدن) ، نتيجة إتحاد المعدن مع البروتوبلازم الخلوى . وبذلك يتوقف نشاط البروتين الخلوى ، ويموت الميكروب .

قد تكون الروابط الملحية المتكونة مع البروتين الإنزيمى روابط ضعيفة ، كما يحدث عند إضافة الصبغات . وهذه الروابط الضعيفة ، تتأين فيما بعد ، تاركة البروتين الإنزيمى كما كان . ولذلك ، فإن هذه المواد وأمثالها ، لاتميت الميكروبات ، بل توقف نموها .

٣- الأكسدة

قد تتعرض محتويات الخلية ، خاصة البروتينات والإنزيمات ، للأكسدة نتيجة التعرض لعامل مضاد ، مثل الأشعة أو البيروكسيدات أو أيونات الإيدروكسيل الحرة ... ، فيحدث على سبيل المثال ، أكسدة المجموعة النشطة بالإنزيم (مثل مجموعة السلفاهيدريل SH-) ، وتتحول إلى مجموعة غير نشطة (داى سلفيد - S - S -) ، وبذلك يفقد الإنزيم فعاليته ، وتتوقف الخلية عن نشاطها .

والتخطيط التالى يوضح ، التغير الذى يحدث فى طبيعة بروتين إنزيمى ، يحتوى على مجموعة سلفاهيدريل ، حدث استبدال لذرة الإيدروجين النشطة بها ، بتأثير كلوريد الزئبقيك .

$$\text{Enzyme}\left\langle\begin{matrix}HS\\ \\ HS\end{matrix}\right. + HgCl_2 \longrightarrow \text{Enzyme}\left\langle\begin{matrix}S\\ |\\ Hg\\ |\\ S\end{matrix}\right. + 2HCl$$

إنزيم نشط   كلوريد زئبقيك   إنزيم غير نشط

ومن الإنزيمات التى تحتوى على مجموعة السلفاهيدريل ، وتتعرض للأكسدة ، أو للتفاعل مع المعادن ، وفقد نشاطها ، انزيمات هامة فى تحليل الكربوهيدرات ، مثل :

Alcoholic dehydrogenase, Phospho - glyceraldehyde dehydrogenase, Succinic dehydrogenase

وكذلك بعض مرافقات الإنزيم مثل CoA ، وكذلك انزيم اليورييز Urease ، الذى تفرزه البكتريا المحللة لليوريا ، ويفقد نشاطه بالأكسدة ، أو بإضافة أيونات النحاس أو الزئبق .

٤ – عدم تكون استرات للفوسفات

قد يحدث أثناء عمليات الأيض الغذائى للميكروب ، عدم تكوين استرات للفوسفات غير العضوية ، نتيجة لوجود عامل مضاد مثل مركب الأزيد Azide ، وبذلك تتوقف تكوين المركبات ذات روابط الطاقة الغنية بالفوسفات ، ويموت الميكروب ، وذلك كما يحدث عندما يتحد الأزيد مع مجموعة فوسفات الأسيل Acyl phosphate ، ويتكون أزيد الأسيل Acyl azide ، فيتوقف تكون الاسترات .

٥ – حدوث تفاعلات ألكله : Alkylation

قد يحدث لبعض مكونات الخلية ، تفاعلات ألكلة ، عند التعرض لعامل مثل أكسيد الاثيلين .

وعملية الألكلة ، هى إحلال مجموعة الكايل Alkyl ، محل ذرة ايدروجين نشطة فى مركب عضوى ، وذلك كما يحدث عند إستبدال ذرة الإيدروجين فى مجموعة كربوكسيل حرة ، أو أمين ، أو سلفاهيدريل ، بتأثير غاز أكسيد الاثيلين . ففى هذا التفاعل تتكسر حلقة جزىء أكسيد الاثيلين ، ويحل الجزىء محل ذرة الإيدروجين النشطة بالبروتين الخلوى أو الإنزيمى ، فيفقد البروتين طبيعته ، ويتوقف عن نشاطه .

والتخطيط التالى ، يوضح عملية الكلة لإنزيم بواسطة أكسيد الاثيلين ، حيث يحل جزىء أكسيد الاثيلين ، محل ذرة ايدروجين فى مجموعة سلفاهيدريل الانزيم ، ويحدث تثبيط للإنزيم

$$CH_2 - CH_2 + Enzyme - SH \longrightarrow Enzyme - S - CH_2 - CH_2OH$$
(O bridging the two CH_2 groups)

أكسيد الاثيلين　　　إنزيم نشط　　　إنزيم غير نشط

٦ - تفاعلات أخرى

قد تحدث تفاعلات أخرى ، تضر بالخلية الميكروبية ، نتيجة للتعرض للعامل المضاد . ومن أمثلة ذلك ، حدوث تحلل مائى لبعض جزيئات الخلية عند تعرضها للبخار ، أو لتأثير بعض المواد الكيميائية ، أو حدوث تسرب لمحتويات الخلية أو ذوبانها ، نتيجة لوجودها فى بيئة ذات قوة جذب سطحى منخفض .

إعادة تنشيط الميكروبات التى تعرضت لعامل مضاد : Reactivation

العوامل الموقفة للنمو ، كما ذكر سابقا ، توقف نمو الميكروب دون أن تقتله . ويمكن إعادة تنشيط الميكروبات Reactivation ، التى تعرضت لهذه العوامل بتفاعلات عكسية التأثير Reversible reactions ، إذا لم يكن التعرض للعامل المضاد قد أستمر لفترة طويلة ترتب عليها موت الميكروب .

وأمثلة على ذلك ، عملية التنشيط الضوئى ، باستخدام الضوء المرئى* ، وذلك بتعريض الميكروبات التى تعرضت للأشعة فوق البنفسجية للضوء ، وإضافة الجلوتاثيون لمعادلة التأثير السام لكلوريد الزئبقيك على الميكروبات ، أو إضافة الأحماض الأمينية ، التى توقفت الميكروبات عن تكوينها لوجود مركبات السلفا ، مثل المثيونين والسيرين ، وتنشيط الخلايا المجففة ، أو المجمدة ، باستخدام المعاملة المناسبة .

المواقع الحيوية بالخلية التى تتأثر بالعوامل المضادة للميكروبات

من المعروف ، أن الخلية الحية تحتوى على العديد من التركيبات والمواقع الحيوية ، التى لكل منها تأثيره الخاص ، على نشاط الخلية ونموها . من هذه المواقع الحيوية ، الجدار الخلوى ، المسئول عن شكل وحماية الخلية ، والغشاء السيتوبلازمى بما يحويه من إنزيمات هامة ، وبما يؤديه من دور أساسى فى النفاذية ، والبروتينات الخلوية ، ودورها فى عمليات البناء والأيض ، والإنزيمات المسئولة عما يتم بالخلية من تفاعلات حيوية ، والأحماض النووية بما تحمله من عوامل تسيطر على نشاط الخلية وعلى صفاتها الوراثية .

تتأثر هذه المكونات والمواقع الحيوية Sites of action بالخلية ، بتأثير العامل المضاد ، فقد يثبط النشاط الخلوى ، أو يوقف النمو ، أو يحدث تغيرات بالخلية تؤدى إلى موتها. ويوضح هذه التغيرات جدول [٤ (١) - ٢] .

---

* أنظر التنشيط الضوئى ، ص ١٢٥ .

جدول ٤ (١) – ٢ : تأثير بعض العوامل المختلفة المضادة للميكروبات على خلية البكتريا

الموقع الحيوى بالخلية	بعض العوامل المضادة وتأثيرها
جدار الخلية	البنسلين – يمنع تكوين جدار الخلية البكتيرية
الغشاء السيتوبلازمى	البوليمكسين – يتلف الغشاء السيتوبلازمى
السيتوبلازم	• الحرارة المرتفعة – تتلف بروتينات السيتوبلازم • الفورمالدهيد – يتفاعل مع مجموعة الأمين بالأحماض الأمينية أو التى بالبروتينات الموجودة بالسيتوبلازم . • اليود ، H_2O_2 ، الهيبوكلوريت – تتفاعل مع مجموعة (- SH) الموجودة بالسيتوبلازم
الرايبوسومات	الارثرومايسين – يوقف عمل الرايبوسومات
المادة النووية	• الحرارة المرتفعة ، بعض الكيميائيات مثل الفينول وأملاح الزنبق – تسبب تغير فى طبيعة البروتين والمادة النووية . • الإشعاع – يحدث خللا فى مكونات المادة الوراثية

ومن هذه التغيرات ، التى تحدث بالخلية الميكروبية ، ومواقعها النشطة ، نتيجة التعرض للعامل المضاد ، مايلى

١ – تلف الجدار الخلوى

يتعرض الجدار الخلوى للتلف ، بتوقف التفاعلات المؤدية لتكوينه ، أو بحدوث تغيرات به بعد تكونه ، مما يؤثر على الخلية الميكروبية .

وقد يحدث نتيجة لفقد الجدار الخلوى ، أو أجزاء منه ، بتأثير العامل المضاد ، نموا غير طبيعيا للخلايا الجديدة المتكونة ، كما يظهر فى بكتريا *E. coli & Proteus vulgaris* ، التى تنمو فى شكل خيوط طويلة كالمكرونة Spaghetti - like ، إذا مانمت البكتريا فى بيئة تحتوى على مضاد حيوى كالبنسلين بتركيزات أقل من تلك المميتة .

٢- تغير نفاذية الخلية

يفقد االغشاء السيتوبلازمى ، قدرته على التنظيم والتحكم فى عملية النفاذية ، نتيجة تأثره بالعامل المضاد ، وبذلك يحدث تغير فى نفاذية الخلية ، وفى تكامل المكونات الخلوية ، مما يسبب إيقاف نمو الخلية الميكروبية ، أو موتها .

ويمكن إفساد نفاذية الغشاء السيتوبلازمى الاختيارية بأكثر من طريقة ، منها

- استخلاص محتويات الغشاء الدهنية بالمواد المذيبة للدهون ، مثل الكلوروفورم ، والأسيتون والاثير .
- إضافة المواد ذات القدرة على خفض قوة الجذب السطحى للسوائل الملاصقة للغشاء ، مثل المنظفات ، وأملاح الصفراء .
- معاملة الخلايا ببعض الانزيمات مثل الليسوزيم أو ببعض المضادات الحيوية مثل البوليمكسين المضاد للبكتريا ، أو النستاتين المضاد للفطر .

٣ - تثبيط الإنزيمات الخلوية :

يحدث تثبيط للانزيمات الخلوية ، لما تقوم به من تفاعلات حيوية وأيض غذائى ، وقد تتلف الإنزيمات فتتوقف عن العمل نهائيا ، نتيجة لتأثرها بالعامل المضاد ، وبذلك تقف الخلية الميكروبية عن النمو ، أو تموت .

٤ - تغير طبيعة البروتين الخلوى والأحماض النووية

حدوث تخثر أو تغير فى طبيعة البروتين ، أو الأحماض النووية ، أو غيرها من مكونات الخلية الحيوية ، نتيجة لتأثير العامل المضاد ، يضر بالخلية الميكروبية . فالحرارة العالية مثلا ، أو التركيزات العالية من المعادن ، تؤدى إلى تخثر البروتين ، أو حدوث تغير فى طبيعته ، كما يسبب الإشعاع خللا فى تنظيم المكونات التى تتحكم فى الصفات الوراثية بالخلية ، مما يؤدى إلى تلف الخلية الميكروبية وموتها .

نظام موت الخلايا بتأثير العوامل المضادة للميكروبات

يزداد معدل موت الميكروبات ، نظريا ، كمحصلة لعامل الزمن ، وذلك ، على إعتبار أن جميع الظروف الأخرى ، البيئية والفسيولوجية ، الخاصة بنمو ونشاط الكائن الدقيق النامى بمزرعة نقية ، مناسبة وموحدة ، طوال فترة التعرض لمعاملة ما، مثل الحرارة المرتفعة أو الحموضة أو مادة كيميائية ... أو غيرها .

فالخلايا الميكروبية الموجودة بالمزرعة النقية ، لاتموت فى لحظة واحدة ، عند تعرضها لعامل مضاد ، بل تموت خلال فترة من الزمن [جدول ٤ (١) -٣] ، بمعدل لوغاريتمى ثابت ، هو عكس مايحدث فى طور النمو اللوغاريتمى بمنحنى نمو ميكروب فى مزرعة نقية .

جدول ٤ (١)-٣ * : النظام النموذجى لموت الخلايا الميكروبية ، بتأثير العامل المضاد (الحرارة المرتفعة) ، عندما يؤثر العامل المضاد بمعدل ثابت وتحت ظروف موحدة ، على البكتريا * .
لاحظ العلاقة بين عدد الخلايا الناجية والميتة ، بسبب المعاملة ، ونسبة الموت ، ومدة التعرض للمعاملة .

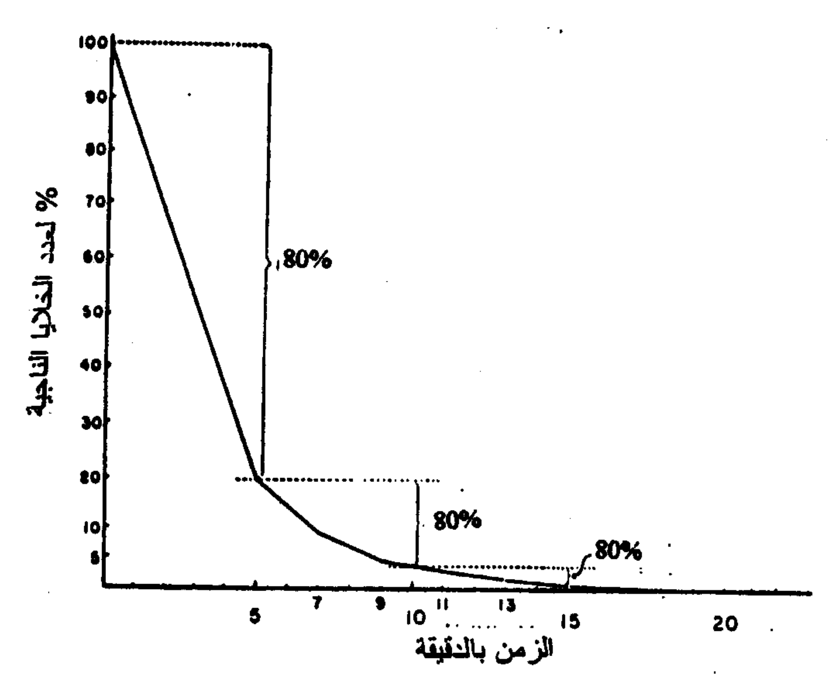
المدة بالدقيقة	عدد الخلايا الناجية/مل	عدد الخلايا الميته فى وحدة الزمن		العدد الكلى للخلايا الميتـــة	
		العدد	%	العدد	%
صفر	واحد مليون	صفر	صفر	صفر	صفـر
١	مائة ألف	٩٠٠ ألف	%٩٠	٩٠٠,٠٠٠	٩٠
٢	عشرة آلاف	٩٠ ألف	%٩٠	٩٩٠,٠٠٠	٩٩
٣	ألف	٩ آلاف	%٩٠	٩٩٩,٠٠٠	٩٩,٩
٤	مائة	٩٠٠	%٩٠	٩٩٩,٩٠٠	٩٩.٩٩
٥	عشرة	٩٠	%٩٠	٩٩٩,٩٩٠	٩٩,٩٩٩
٦	واحد	٩	%٩٠	٩٩٩.٩٩٩	٩٩,٩٩٩

*** From, Pelczar and Chan, 1981.**

ويتضح من جدول [٤ (١) -٣] ، أن عدد خلايا البكتريا الموجودة بالمعلق ، قبل المعاملة ، هو واحد مليون/مل . وبتعرض هذه الخلايا لعامل القتل وهو الحرارة ، حدث القتل بنسبة ٩٠% فى الدقيقة ، أى بمعدل ثابت ، وخلال ٦ دقائق من المعاملة ، أصبح عدد الخلايا الناجية ، بعد كل دقيقة من المعاملة ، هو ١×١٠^{٥} – ١×١٠^{٤} – ١×١٠^{٣} – ١×١٠^{٢} – ١×١٠^{١} – ١ وآخر رقم ، يدل على أن خلية حية واحدة كانت موجودة ، فى واحد مل معلق ، بعد ٦ دقائق من المعاملة .

نلاحظ من ذلك ، أنه عند تعرض الميكروبات الموجودة بمزرعة نقية ، لعامل مضاد ، فإن موت الخلايا يتم طبقا لنظام لوغاريتمى . فموت الخلايا لايتم فى لحظة واحدة ، بل بشكل مضطرد ، حيث يكون عدد الخلايا المقتولة فى وحدة الزمن ، كبيرا فى البداية ، ويقل بنظام لوغاريتمى باستمرار المعاملة ، كلما طال الزمن ، بمعنى أن نسبة الخلايا المقتولة يظل ثابتا فى وحدة الزمن . وعلى ذلك ، فإنه إذا أقيمت علاقة بيانية ، تربط بين عدد الخلايا الناجية بالقيم اللوغاريتمية ، وبين وحدة الزمن ، فإن الناتج يعطى خطا مستقيما مائلا Straight slant line [شكل ٤ (١) – ٢ ، ٣] .

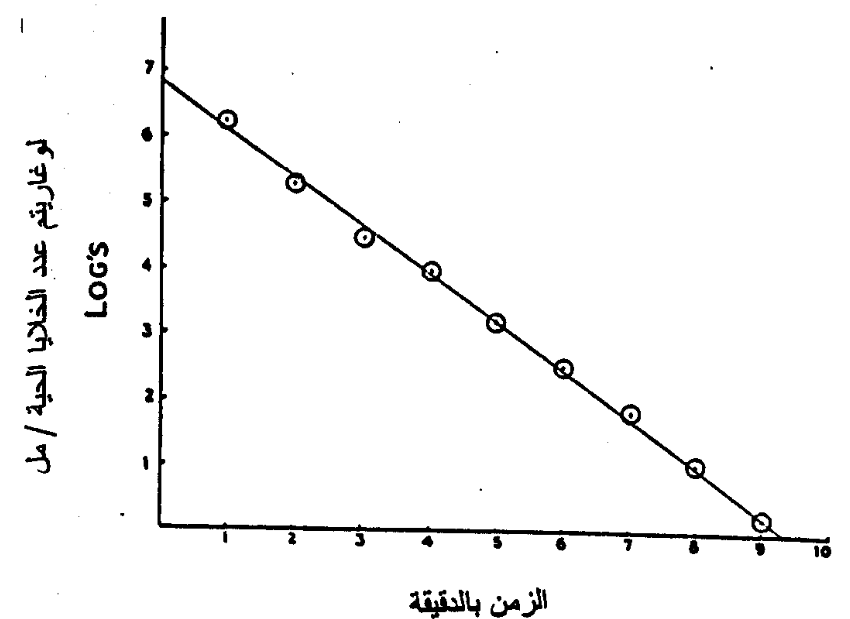




شكل ٤ (١)-٢ : منحنى الموت الحسابى الذى يوضح العلاقة بين الزمن والنسبة المئوية لخلايا بكتريا *B. anthracis* الناجية من المعاملة بفينول ٥% ، عند درجة حرارة وحموضة ثابتة .

لاحظ أن نسبة الخلايا الميتة ثابت فى وحدة الزمن

From, **Frobisher, 1974**



شكل ٤ (١)-٣ : منحنى الموت اللوغاريتمى الذى يوضح العلاقة بين لوغاريتم أعداد خلايا *B. anthracis* الناجية وزمن التعرض للتعامل بفينول ٥% عند درجة حرارة وحموضة ثابتة

لاحظ أن المنحنى الذى يربط لوغاريتم العدد بوحدة الزمن ، يظهر كخط مستقيم

From, **Frobisher, 1974**

وهذا النظام اللوغاريتمى للموت ، بفعل العامل المضاد ، يمكن التعبير عنه رياضيــا ، بالمعادلة التالية :

ك = (لو أ – لو ب) / ت حيث

ك = ثابت معدل الموت ، للعامل المضاد المستخدم فى القتل .
أ = عدد الخلايا الحية الموجودة بوحدة الحجم فى بداية التجربة ، أو وقت التلقيح .
ب = عدد الخلايا الناجية بوحدة الحجم فى نهاية التجربة ، أى بعد مرور الفترة الزمنية ت
ت = الزمن الذى أستغرقته التجربة من بدايتها لنهايتها ، أو بين التلقيح وأخذ العينة

ومن هذه المعادلة ، يمكن حساب معدل موت خلايا أى كائن دقيــق ، عنــد تعرضــه لعامل مضاد قاتل

وماذكر سابقا ، عن موت الخلايا الميكروبية ، بتأثير الحرارة ، ينطبق بشــكل عــام ، على مايتعلق بتأثير العوامل المضادة الأخرى على الكائنات وحيـــدة الخليــة ، واضعيــن فــى الإعتبار ، أن الميكروب نامى فى مزرعة نقية تحت ظروف مناسبة ، وأن التأثير يعود فقط إلــى العامل المضاد الجارى دراسة تأثيره القاتل .

اختيار العامل المضاد المناسب : Selection of antimicrobial agent

نظرا لتعدد الظروف التى تؤثر على استعمال العامل المضاد للميكروبات ، لذلك ، فإنــه لاتوجد مادة واحدة ، يمكن إعتبارها مهلكا أو مبيدا نموذجيـــا ، Ideal disinfictant ، يمكــن استعمالها فى جميع الأغراض ، وتحت كل الظروف .

على سبيل المثال ، فإن العامل المضاد للفطريات ، قد لايصلح للبكتريـــا ، ومـــايصلح للبكتريا الموجبة لصبغة جرام ، قد لايناسب السالبة لجرام ، والمناسب لتعقيم سطح مـــادة غــير حية ، مثل سطح منضدة أو معدات جراحية ، قد لايصلح لتطهير جلد كائن حى ، وبالمثل فـــإن العامل المضاد المستخدم لمعاملة مادة غذائية ، قد لايصلح لمعاملة مادة حيوية تحقن فى مريض. فكل حالة من الحالات ، يجب أن تختبر تحت ظروفها الخاصة ، على أساس ماتم التوصل إليــه مـــن نتائج خاصة بها ، والعامل المضاد المناسب الذى يحقق النتيجة المستهدفة .

عموما ، فإن اختيار العامل المضاد المناسب ، يتوقف على نوع الميكروب ، وطبيعة المادة التــى ستعامل ، والظروف البيئية الخاصة بالوسط من رطوبة وحـــرارة وحموضـــة ووجـــود مـــواد عضوية ... الخ .

القوة القاتلة للمواد المضادة للميكروبات : Potency of disinfectants

تُقيَّم المواد المضادة للميكروبات ، بتقدير قوتها القاتلة ، وذلك حتى يمكن تقدير قيمتها ، والمقارنة بينها وبين المواد الأخرى .

وتوجد عدة طرق لتقدير القوة القاتلة للمواد المستعملة فى قتل الميكروبات . وتتوقف الطريقة المستخدمة على نوع المادة التى سيقدر قوتها ، ومكان وظروف استعمالها .

من الطرق المستخدمة : تقدير معامل الفينول Phenol coefficient ، وهو يستعمل لتقييم المواد التى تستعمل خارج الجسم . وتستعمل طرق التخفيف والانتشار ، كطرق أقراص ورق الترشيح ، وطريقة الأسطوانات ، وطرق تقدير الوحدات Unit assay ، لتقييم المضادات الحيوية ، ، وتقدر القوة القاتلة لمركبات السلفا ، فى عينات دم أو بول المريض الذى يعالج بهذه المركبات ، كما يقدر مدى التأثير الضار لمادة كيميائية على النسيج الإنسانى أو الحيوانى ، بتحديد معامل سمية هذه المادة Toxicity index .

وهكذا ، فإن طرق التقدير تختلف بإختلاف الظروف ، ويمكن الرجوع الى التفصيلات الخاصة بهذه الطرق ، وغيرها من الطرق ، فى كتب العملى المتخصصة .

﴿الباب الرابع – الفصل الثانى﴾

تأثير العوامل الطبيعية والبيئية

المحتويـــات

المحتويـــات

(الباب الرابع - الفصل الثانى)

تأثير العوامل الطبيعية والبيئية
Effect of Physical and Environmental Factors

تؤثر العوامل الطبيعية والبيئية على نمو ونشاط الميكروبات ، ويتوقف مدى هذا التأثير على ظروف عديدة ، وسنناقش فى هذا الفصل ، أهم هذه العوامل ، والظروف المؤثـــرة علـــى كفاءتها .

الحرارة : Temperature

تعتبر الحرارة ، أحد العوامل الهامة المؤثرة ، على كل أنواع الحياة ، فالخلية الحيـــة ، كما هو معروف ، تتكون من بروتوبلازم غروى ، يحتوى على مواد عديدة فى حالـــة إتـزان دقيق ، وهذا البروتوبلازم قابل للتأثر بالحرارة ، كما أنه من المعروف ، أن كل عمليات النمـــو تعتمد على تفاعلات كيميائية ، تتم بواسطة الإنزيمات الخلوية . وتتأثر الإنزيمـــات بـــالحرارة ، لذلك ، يتأثر معدل مايتم من تفاعلات بالخلية ، بدرجة حرارة التفاعل .

لكل هذه الأسباب ، فإننا نجد أن الحرارة تُحدِّد جزئياً معدل نمو الميكـــروب ، وكميـــة نموه النهائية ، كما أنهاتؤثر على عمليات الأيض الغذائى ، وعلى الشكل المورفولوجى للخلايـــا . ومن الأمثلة الواضحة للتغير فى طبيعة الميكروب ، نتيجة التغير فى درجة حـــرارة الوسـط ، مايحدث فى حالة بكتريا *B. anthracis* ، وهى بكتريا متجرثمة ، تسبب مرض الجمرة الخبيثـــة. ودرجة حرارة نموها المثلى ٣٧°م ، فإذا مانميت هذه البكتريا وتم نقلها على بيئات غذائية عـــدة مرات على درجة ٤٢°م ، فإنها تفقد قدرتها على تكوين الجراثيم ، وعلى إحداث العدوى .

تأثير التغير فى درجات الحرارة على الكائن

يسبب إنخفاض الحرارة عن الدرجة المثلى لنمو الميكروب ، تقليـــل معـــدل ســـرعة التفاعلات الكيميائية التى تتم بخلية الكائن ، وزيادة لزوجة سوائل الخلية ،وتصلـــب مابـــها مـــن لبيدات ، فيقل النشاط الخلوى ، وبزيادة الانخفاض فى درجة الحرارة عـــن الدرجـــة الصغـــرى للنمو ، يتوقف النشاط الخلوى نهائياً .

ويسبب ارتفاع الحرارة عن الدرجة العظمى للنمو ، تلف البروتين الخلوى والإنزيمـــى والقواعد النتروجينية ، بـــالتخثر Coagulation ، أو بحـــدوث تغـــير فـــى طبيعـــة الجـــزىء Denaturation ، ونتيجة لذلك تموت الخلية الميكروبية .

النطاق الحرارى للنمو : Temperature range of growth

لكل نوع من الميكروبات ، وأحيانا لكل سلالة ، ثلاث درجات حـــرارة للنمـــو ، هـــى العظمى والمثلى والصغرى ، وتختلف هذه الدرجات بتغير ظروف الوسط ، ولكنها ثابتـــة عنـــد توحد الظروف .

درجة الحرارة العظمى (القصوى) للنمو: Maximum growth temperature

تعرف هذه الدرجة ، بأنها أعلى درجة حرارة يمكن أن ينمو عندها الميكروب ، بحيث لو إرتفعت درجة الحرارة عن القصوى فإن الميكروب يتوقف عن النمو ، وإذا مازاد إرتفاع الحرارة ، فإن الميكروب يموت .

درجة الحرارة المثلى للنمو : Optimum growth temperature

هذه الدرجة ، هى أنسب درجة حرارة ينمو عندها الميكروب ، وعند هذه الدرجة يكون النمو سريعا ، وكميتة كبيرة .

درجة الحرارة الصغرى (الدنيا) : Minimum growth temperature

درجة حرارة النمو الصغرى ، هى أقل درجة حرارة يمكن أن ينمو عندها الميكروب ، بحيث إذا إنخفضت درجة حرارة الوسط عنها ، فإن الميكروب يتوقف عن النمو ، ويصبح فى حالة سكون Dormancy .

ويعرف **النطاق الحرارى للنمو** Temperature range of growth ، بأنه درجات الحرارة ، التى يستطيع أن ينمو عندها الميكروب ، ويقع هذا النطاق مابين درجة حرارة النمو الصغرى والعظمى .

وتستطيع البكتريا ، عموما ، أن تنمو فى نطاق متسع من الحرارة ، يتراوح مابين صفر إلى ٨٠°م ،وتختلف هذه القدرة من نوع لأخر ، فمن الأنواع ذات القدرة الكبيرة *B. subtilis* ، الذى يمكنه أن ينمو مابين درجة ٦ إلى درجة ٥٠°م ، وكذلك بكتريا القولون *E. coli* ، التى تنمو مابين درجة ١٠ إلى ٤٥°م . وهناك أنواع أخرى لها نطاق ضيق للنمو ، كالميكروبات المرضية ، مثل ميكروب السل (من ٢٠ إلى ٤٠°م) ، وميكروب السيلان الذى لاينمو إلا بالقرب من درجة ٣٧°م .

أقسام الميكروبات بالنسبة لدرجة حرارة النمو المثلى

تعتبر درجة حرارة النمو المثلى Optimum growth temperature للكائن ، هى درجة حرارة التحضين ، التى تعطى أغزر نمو لهذا الكائن بسرعة Most rapid growth ، أى خلال فترة قصيرة من الزمن (١٢-٢٤ ساعة عادة) .

وعلى أساس درجة حرارة النمو المثلى ، فإن البكتريا تقسم للأقسام الثلاثة التالية

١- بكتريا محبة للحرارة المنخفضة (البرودة) : Psychrophiles, Cold-loving bacteria

هذه البكتريا ، هى التى درجة حرارة نموها المثلى أقل من ١٥°م ، ويتراوح نطاق نموها الحرارى ، مابين صفر إلى ٣٠°م [جدول ٤ (٢) -١] .

بعض أنواع البكتريا البحرية ، التى تأقلمت على الحياة عند درجة ٤°م ، وهى حرارة مياه الأعماق ، وتموت بعد بضعة دقائق إذا ماتعرضت لدرجة ٣٠°م ، تسمى بكتريا محبة للبرودة إجبارا Obligate psychrophiles . أما تلك الأنواع من البكتريا ، التى تستطيع أن تنمو

عند درجات حرارة تقرب من الحدود الصغرى الخاصة بنمو البكتريا المحبة للحرارة المتوسطة، فإنها تسمى بكتريا محبة للبرودة اختيارا Facultative psychrophiles .

يكثر وجود البكتريا المحبة للحرارة المنخفضة فى أراضى المناطق الباردة وفى المياه، حيث تلعب دورا هاما فى التحلل المستمر للكميات الضخمة من المواد العضوية التى بالمحيطات والأراضى ، كما أنها توجد بكثرة فى المبردات ، حيث تسبب البكتريا بالإضافة إلى الخمائر والفطريات المحبة للحرارة المنخفضة ، فساد الأغذية وغيرها من المواد المحفوظة بالثلاجات .

جدول ٤ (٢) - ١ : نطاق النمو الحرارى لبعض مجاميع البكتريا .

المجموعة الفسيولوجية	درجة الحرارة °م		
	الصغرى	المثلى	العظمى
بكتريا محبة للحرارة المنخفضة	صفر	أقل من ١٥°م	٣٠
بكتريا محبة للحرارة المتوسطة	٥ - ٢٥	١٥ - ٤٥	٣٠ - ٥٠
بكتريا محبة للحرارة المرتفعة	٢٥ - ٤٥	أعلى من ٤٥	٦٠ - ٨٠
بكتريا محبة للحرارة المرتفعة اختيارا	أقل من ٤٠	أعلى من ٤٥	٦٠
بكتريا محبة للحرارة المرتفعة إجبارا	أكثر من ٤٠	أعلى من ٤٥	٨٠

٢- بكتريا محبة للحرارة المتوسطة : Mesophiles

هذه البكتريا ، هى التى يتراوح درجة حرارة نموها المثلى بين ١٥ الى ٤٥°م ، ويتراوح نطاق نموها الحرارى بين ٥ الى ٥٠°م [جدول ٤ (٢) - ١] ، وينتمى الى هذا القسم أغلب أنواع البكتريا مثل بكتريا المياه والأراضى والأنواع الممرضة

وتعرف البكتريا المحبة للحرارة المتوسطة ، التى تستطيع خلاياها الخضرية أن تتحمل درجات حرارة البسترة العادية فى اللبن ، تعرف باسم بكتريا مقاومة للحرارة Thermoduric bacteria ، مثل بعض الأنواع التابعة لأجناس *Microbacterium, Micrococcus* .

٣- بكتريا محبة للحرارةالمرتفعة : Thermophiles, Heat-loving bacteria

هذه البكتريا هى التى لها درجة حرارة نمو مثلى أعلى من ٤٥°م ، ويتراوح نطاق نموها الحرارى بين ٢٥ الى ٨٠°م .

تقسم البكتريا المحبة للحرارة المرتفعة إلى

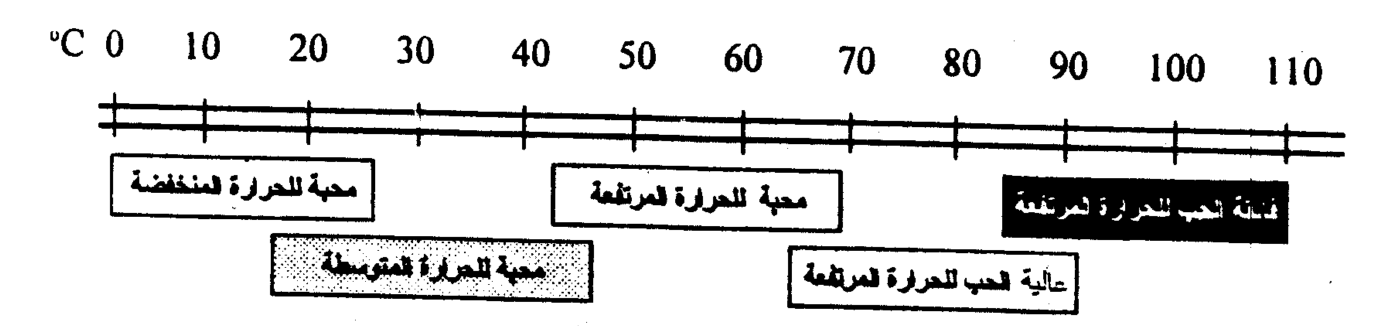
أ - بكتريا محبة لدرجات الحرارة المرتفعة إجبارا Obligate thermophiles ، وهى لاتستطيع النمو عند درجة حرارة أقل من ٤٠°م .

ب- بكتريا محبة لدرجات الحرارة المرتفعة إختيارا Facultative thermophiles ، وهى تستطيع النمو عند درجات الحرارة المتوسطة ، مثل ٢٥°م .

توجد البكتريا المحبة للحرارة المرتفعة طبيعيا ، فى النافورات الساخنة ، وفى السماد العضوى وسماد الاسطبل ، وفى الأراضى ، كما أنها توجد فى الأغذية المعلبة المحفوظة بالحرارة ، حيث تسبب فسادها ، مالم تبرد الأغذية بسرعة بعد المعاملة الحرارية مع الحفظ فى اماكن مناسبة .

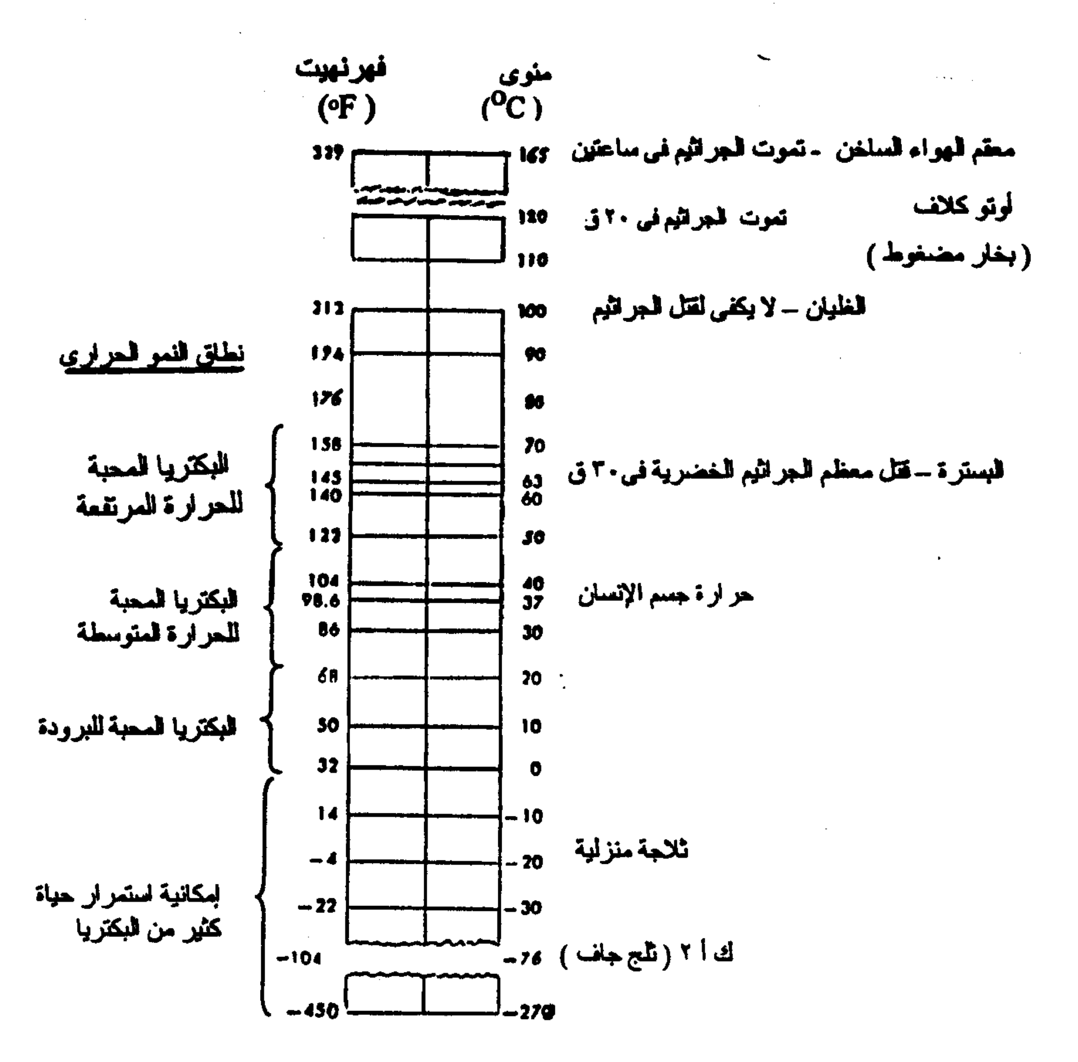
ويوضح الشكل [٤ (٢) - ١] التالى ، النطاق الحرارى لنمو أنواع متعددة من البكتريا.

From : Schlegel H.G. (1995). General Microbiology, Cambridge Univ. Press, New York.



Gallionella	*Escherichia coli*	*Bacillus stearothermophilus*	*Thermococcus*	*Pyrodictium occultum*
Leptothrix	*Alcaligenes*	*Thermoactinomyces vulgaris*	*Thermotoga*	*Pyrodictium brockii*
Bacillus	*Pseudomonas*	*Thermus aquaticus*	*Sulfolobus*	*Methanopyrus*
Flavobacterium islandicum	*Staphylococcus*		*Thermoproteus*	*Pyrobaculum*
			Desulfurolobus	

كما يبين الشكل[٤ (٢) - ٢] درجات الحرارة الهامة بالنسبة للأحياء الدقيقة



شكل ٤ (٢) – ٢ :
بعض درجات الحرارة ذات الأهمية فى مجال الميكرو بيولوجى

شكل ٤ (٢)- ٢ : بعض درجات الحرارة ذات الأهمية فى مجال الميكروبيولوجى

From : Frobisher, 1974.

وبالنسبة للبكتريا المحبة للحرارة المرتفعة إجبارا ، فمنها

- مايتوقف نموه الخضرى عند حوالى ٧٠°م مثل *B. stearothermophilus* .
- ومنها مايقع نموه الأمثل عند درجة أعلى من ٦٥°م مثل *Thermus aquaticus* .
- ومنها مايستطيع النمو حتى درجة ٨٠°م مثل *Sulfolobus acidocaldarius* ، أو حتى عند درجة ١٠٥°م مثل بعض أنواع من البكتريا اللاهوائية حتماً المختزلة للكبريت .

وتسمى البكتريا التى تنمو بين درجة ٨٠ الى ١٠٠°م ببكتريا فائقة الحب للحرارة المرتفعة Hyper-thermophiles .

تحمل الحرارة والنمو : Endurance and growth

يجب أن نفرق تماما ، بين قدرة الميكروب على تحمل Endure درجة حرارة معينة ، وقدرته على النمو عند هذه الدرجة ، فكثير من الكائنات ، بما فى ذلك الفيروسات والبكتريا والفطريات وخلايا الثدييات ، يمكن أن تبقى حية ، دون القدرة على النمو بتاتاً ، لعدة أشهر أو سنين ، مجمدة فى الثلج الجاف (ثلج ك أ٢ عند درجة -٧٦°م) ، أو النتروجين السائل (-١٩٥°م) ، كما أن الكائنات المقاومة لدرجات الحرارة المرتفعة Thermoduric ، تستطيع أن تبقى حية ، عند درجات حرارة أعلى من ٥٠°م ، دون أن تكون قادرة على النمو عند هذه الدرجات .

تأثير الحرارة المنخفضة

الميكروبات أقل تأثرا بإنخفاض الحرارة ، عنها من إرتفاع الحرارة ، فعندما تنخفض درجة حرارة الوسط عن الدرجة المثلى ، يقل النشاط الأيضى للخلايا ، وينخفض معدل تمثيل الميكروبات ككل الكائنات الحية ، بمقدار النصف تقريبا ، لكل عشرة درجات إنخفاض فى درجات الحرارة . فإذا ماوصل إنخفاض الحرارة الى الدرجة الصغرى ، يقف النشاط الأيضى ، وتصبح الخلايا الميكروبية فى حالة سكون Dormancy ، ويستفاد من هذه الخاصية فى عمليات حفظ الأغذية ، وحفظ المزارع الميكروبية .

إذا ماوصل الإنخفاض فى درجة حرارة الوسط إلى التجمد Freezing ، فإن الكثير من الخلايا يبقى ، متحملا التجمد لمدة طويلة ، وإن كانت بعض الخلايا تموت بطريقة ميكانيكية ، بسبب تمزيق بللورات الثلج المتكونة لخلايا الميكروب . وهنا يلاحظ ، أن تأثير التجميد على الخلايا ، يتوقف على السرعة التى يتجمد بها الماء داخل الخلية ، وعلى ذلك فإننا نجد أن التجميد السريع Quick freezing ، أقل ضررا على الخلايا من التجميد البطىء Slow freezing ، حيث أنه فى الحالة الأخيرة ، تتكون البللورات الثلجية ببطء ، وتصبح كبيرة حادة تمزق الخلية ، بينما فى حالة التجميد السريع ، تتكون البللورات الثلجية بسرعة ، وتصبح ذات شكل وملمس قطنى .

ولذلك فإن التجميد لايعتبر من طرق التعقيم ، وقد وجد أن بعض أنواع الباسلس ، تبقى حية لمدة ثلاثة أيام ، على درجة حرارة الإيدروجين المسال (-٢٥٣°م) .

التجفيد ، التجفيف مع التجميد : Lyophilization, Freeze-drying

تحفظ المزارع البكتيرية ، لعدة شهور على درجة حرارة منخفضة بوضعها فى الثلاجة ، ويمكن الآن حفظ هذه المزارع لمدد طويلة جدا ، تصل لعدة سنوات ، بإستعمال طريقة التجفيد ، وهى طريقة تجمع مابين التجميد والتجفيف ، وذلك بتجميد المزرعة ، وهى فى الوعاء (عادة أمبول Ampule) الذى يحتويتها ، تجميدا سريعا بواسطة الثلج الجاف (ك أ٢ الصلب) ، ثم تجفيف المزرعة المتجمدة بالتسامى تحت تفريغ ، مع قفل الوعاء تحت التفريغ قفلا محكماً .

وتحفظ الميكروبات المجفدة ، فى مكان بارد مظلم ، وبهذا تبقى حية لسنين طويلة . وتستخدم هذه الطريقة الآن بكثرة فى المصانع والطب والمعامل الميكروبيولوجية .

تأثير الحرارة المرتفعة

معدل الموت

إذا إرتفعت درجة حرارة الوسط ، عن الدرجة العظمى لنمو الميكروب ، يتلف البروتين الخلوى والإنزيمى والقواعد النتروجينية بالأحماض النووية ، فيموت الميكروب ، ويتأثر معدل موت الخلايا Rate of death بعوامل عديدة ، منها ظروف المزرعة الميكروبية من حيث تركيب البيئة ، ونوع وعدد وعمر الخلايا ، وحموضة المزرعة ، ودرجة الحرارة المستعملة فى القتل ، ونسبة الرطوبة الموجودة .

وعلى اعتبار أن جميع الظروف البيئية مناسبة وموحده ، فقد وجد أن موت الخلايا نتيجة لإرتفاع درجات الحرارة ، يتم طبقا لنظام لوغاريتمى [شكل ٤ (١)- ٣ بالفصل السابق] .

الخلايا الميكروبية الناضجة ، أكثر مقاومة للقتل من الخلايا الحديثة ، كما أن الخلايا المغلفة بمواد مخاطية أكثر مقاومة من الخلايا العارية ، لبطء وصول تأثير الحرارة لمراكز المواد المتجمعة .

الرطوبة والحرارة

وجد أن الحرارة الرطبة Moist heat (أى حرارة مصحوبة برطوبة) ، أشد تأثيرا على الخلايا الميكروبية من الحرارة الجافة Dry heat ، حيث تساعد الرطوبة على تخلل الحرارة للخلية ، وبالتالى على سرعة تخثر البروتين الخلوى وتلفه ، وعلى سبيل المثال ، فإن جراثيم البكتريا المسببة للتسمم البوتشوليني *Cl. botulinum* ، تموت بعد ٢٠ دقيقة من تعرضها للحرارة الرطبة عند درجة ١٢٠°م ، بينما لاتموت إلا بعد ساعتين من تعرضها للحرارة الجافة عند نفس درجة الحرارة .

وكلما زادت نسبة الرطوبة ، كلما قلت درجة الحرارة اللازمة لتخثر بروتين الخلية الميكروبية ، ويوضح ذلك دراسة تأثير كمية رطوبة البيومين البيض ، على درجات الحرارة اللازمة لتخثره [جدول ٤ (٢) - ٢] .

جدول ٤ (٢) - ٢ : العلاقة بين المحتوى الرطوبى لألبيومين البيض ودرجة الحرارة اللازمة لتخثره .

كمية الرطوبة %	درجة حرارة التخثر°م
٥٠	٥٦
٢٥	٨٠
صفر	١٧٠

المقاومة الحرارية للجراثيم والبكتريا المحبة للحرارة المرتفعة : Thermal resistance

يرجع مقاومة البكتريا الثرموفيلية لفعل الحرارة ، إلى تركيب الإنزيمات الموجودة بها، حيث وجد أن لهذه الإنزيمات ، القدرة على مقاومة التثبيط الحرارى ، ويعود ذلك الى طبيعة تركيب هذه الإنزيمات ، الذى يساعد على مقاومة الحرارة بدرجة أكبر ، من مثيلتها الميزوفيلية.

وجراثيم البكتريا أكثر مقاومة للحرارة من الخلايا الخضرية الناتجة منها ، فبينما يمكن قتل الخلايا الخضرية لنوع من البكتريا على درجة حرارة أقل من الغليان ، فإن بعض الجراثيم تقاوم درجة الغليان لمدة ١٦ ساعة ، لذلك فإنه لايكتفى بالغليان لقتل الجراثيم ، بل يلزم استعمال درجة حرارة أعلى من ١٠٠°م ، بإستخدام أجهزة التعقيم المناسبة كالأوتوكلاف .

ونظرا لأن الخلايا الخضرية تهلك بتعرضها لدرجة ٨٠°م لعدة دقائق ، أو درجة ٦٠°م لمدة نصف ساعة ، فإن هذه الخاصية تستخدم فى تحضير اللقاح Vaccine ، حيث تعرض البكتريا لدرجة ٦٠°م لمدة ٣٠-٦٠ ق ، فتقتل الخلايا البكتيرية ، دون الإضرار بمركبات الخلية اللازمة لإحداث المناعة .

مصطلحات مستخدمة للتعبير عن مقاومة البكتريا للحرارة

درجة الحرارة القاتلة : Thermal death point

إذا إرتفعت درجة حرارة الوسط عن الدرجة العظمى لنمو الميكروب ، فاننا نصل الى درجة الحرارة القاتلة ، وتعرف هذه الدرجة بأنها أقل درجة حرارة بعد العظمى ، يقتل عندها الميكروب ، إذا ماتعرض لها لمدة عشرة دقائق ، على أن يكون الميكروب ناميا فى مزرعة عمرها ٢٤ ساعة .

الوقت المميت : Death time

يعرف الوقت المميت ، بأنه الوقت بالدقيقة ، اللازم لقتل كل الميكروبات التابعة لنوع ما ، الموجودة فى حجم معين عند درجة حرارة معينة .

ويختلف الوقت المميت لنوع ما ، بإختلاف درجات الحرارة المستخدمة ، فعلى سبيل المثال ، فإن بكتريا السل تموت بعد ٣٠ دقيقة من التعرض لدرجة ٥٨°م ، وبعد ٢٠ دقيقة من التعرض لدرجة ٥٩°م ، وبعد ١٥ دقيقة على درجة ٦٠°م ، وبعد ١٠ دقائق على درجة ٦١°م وبعد ٢ دقيقة على درجة ٦٥°م .

النتائج المتحصل عليها من الدراسات الخاصة بالوقت المميت ودرجة الحرارة القاتلة ، تعتبر ذات أهمية كبيرة فى الميكروبيولوجيا التطبيقية ، خاصة فى صناعة المعلبات ، حيث يمكن على أساس النتائج المتحصل عليها ، تحديد المعاملة الحرارية (أى درجة الحرارة والوقت) اللازمة لمعاملة الأغذية المعلبة ، لحفظ محتوياتها من عوامل الفساد الميكروبى .

التعقيم بالحرارة : Sterilization by heat

تستخدم الحرارة المرتفعة ، فى التخلص من الميكروبات ، ومن أكثر أنواع الحرارة إستعمالا فى التعقيم ، استخدام الحرارة الرطبة بجهاز الأوتوكلاف أى البخار تحت ضغط ، حيث يمكن بهذه الطريقة ، استخدام درجة حرارة أعلى من ١٠٠°م فى وجود الرطوبة ، وعموما ، يعتبر استعمال ضغط ١٥ رطل على البوصة المربعة (أى مايعادل ١٢١,٥°م) لمدة ١٥ دقيقة ، معاملة كافية للتخلص من الخلايا البكتيرية الخضرية والمتجرثمة .

الرطوبة : Moisture

تؤثر رطوبة الوسط على نمو ونشاط الكائنات الدقيقة ، ويُكوِّن الماء من ٧٠ الى ٩٠% من مكونات الخلية . وتعتبر البكتريا من الكائنات المائية Aquatic ، وحيث أنها تتغذى بالإنتشار الغشائى ، فإن الماء ضرورى لحياتها ، ليذيب المواد الغذائية اللازمة للخلية ، وليحمل المواد التالفة إلى خارجها ، وكذلك للمحافظة على رطوبة السيتوبلازم ، وتوفير نسبة الرطوبة الكافية لإجراء التفاعلات الحيوية التى تتم بداخل الخلية .

ليست الرطوبة الكلية Total moisture التى تحتويها البيئة ، هى التى تحدد نمو الميكروب ونشاطه ، فقد يكون محتوى البيئة من الرطوبة عاليا ، ولكنها موجودة بالبيئة فى صورة غير حرة، كأن تكون مرتبطة بالبروتينات ، والمواد الغروية ، بحيث لايستطيع الميكروب الاستفادة منها ، فيقف نموه . وعلى ذلك ، فإن الذى يحدد نشاط الكائن الدقيق ، هو كمية الرطوبة الحرة (الميسرة) Available moisture الموجودة بالبيئة النامى بها الكائن ، أى كمية الماء الموجودة بحالة حرة ، فى البيئة ، أو المادة الغذائية .

ويمكن معرفة الرطوبة الحرة ، بتقدير النشاط المائى للوسط نم ، a_w ، Water activity ، وهو عبارة عن النسبة بين الضغط البخارى للمحلول ، وبين الضغط البخارى للمذيب (الماء) ، علما بأن نم الماء النقى = ١ .

الحد الأدنى من نم ، اللازم لنمو بعض مجاميع الكائنات الدقيقة ، موضح بجدول [٤ (٢) -- ٣] ، علما بأن هذا الحد الأدنى ، يحدده عوامل عديدة ، متعلقة بنوع الميكروب ، والظروف البيئية النامى فيها .

جدول ٤ (٢)-٣ : الحد الأدنى من نم اللازم لنمو بعض الكائنات الدقيقة .

أنواع الكائنات		الحد الأدنى من نم اللازم للنمو
غير أوزموفيلية		
بكتريا		٠,٩١
خميرة		٠,٨٨
فطريات		٠,٨١
أوزموفيلية		
بكتريا محبة للملوحة	Halophiles	٠,٧٥
فطريات محبة للجفاف	Xerophiles	٠,٦٥
خمائر محبة للضغط الأسموزى المرتفع	Osmophiles	٠,٦٠

ويتضح من الجدول السابق ، أن الفطريات (غير الأزموفيلية) ، تتحمل حدا أدنى من الرطوبة الحرة أقل مما تتحمله الخمائر والبكتريا ، بمعنى أخر ، فإن البكتريا تحتاج لرطوبة حرة أكثر مما تحتاجه الخمائر ، وتحتاج الخمائر لرطوبة حرة أكثر من الفطريات .

وبصفة عامة ، فإن معظم الكائنات الدقيقة العادية أى غير الأزموفيلية ، تقف عن النمو ، إذا قل النشاط المائى (نم) عن ٠,٧ ، ومن حيث المحتوى الكلى للرطوبة ، فإن نمو الكائنات الدقيقة ، يُحَد إلى درجة كبيرة ، إذا قلت نسبة الرطوبة الكلية بالوسط عن ١٠-١٥% .

الجفاف : Desiccation

يؤثر الجفاف على نشاط الكائنات الدقيقة ، فتجفيف الوسط ، أو تجفيف الخلية الميكروبية ، يقلل أو قد يوقف نشاطها ، وقد يعقب ذلك الموت فى بعض الحالات . وعموما فإن المدة التى تستطيع أن تتحملها الميكروبات وتبقى خلالها حية ، بعد إجراء التجفيف ، تعتمد على نوع الميكروب ، وظروف وتركيب الوسط الموجود به الميكروب ، ودرجة التجفيف .

تتأثر الخلايا الخضرية للبكتريا بالجفاف ، وقد تهلك نتيجة لذلك ، وعموما تتميز جراثيم الميكروبات ، مثل الجراثيم الكونيدية ، والكلاميدية ، والأرثوسبور ، وحويصلات البروتوزوا ، بتحمل الجفاف لفترات طويلة ، عن خلاياها الخضرية ، وإن كانت تتميز جراثيم البكتريا بشدة مقاومتها للجفاف ، فجراثيم بكتريا الحمى التفحمية ، على سبيل المثال ، يمكن أن تنبت وتعاود نشاطها ، بعد عشرة سنوات أو أكثر من الحفظ هوائيا بحالة جافة .

يختلف تأثر البكتريا بالجفاف بإختلاف النوع ، وعلى سبيل المثال ، فإن بكتريا السل تعتبر من الأنواع الشديدة المقاومة للجفاف ، حيث تتحمل الجفاف لمدة ٩٠ يوما ، بينما نجد أن بكتريا الكوليرا لاتتحمل الجفاف لأكثر من يومين ، فهى حساسة له ، وبكتريا السيلان شديدة

الحساسية حيث تموت بعد عدة ساعات من تعرضها للجفاف ، كما وجد أن البكتريا ذات العلبة ، أكثر مقاومة للجفاف من مثيلتها التى بدون علبة .

ولو أن بعض خلايا البكتريا الخضرية ، وأغلب أنواع البكتريا المتجرثمة ، تحتفظ بحيوتها لمدة طويلة فى حالة جفاف ، إلا أن نموها ونشاطها يكون متوقفا ، لعدم وجود الرطوبة الكافية التى تمكن الميكروب ، من الحصول على غذائه ، والقيام بنشاطه الحيوى . وتستغل هذه الخاصية ، فى حفظ كثير من الأغذية لمدد طويلة بالتجفيف ، كما فى حالة الفواكه ، واللبن ، والأسماك ، وبعض الأغذية الأخرى ، على أنه إذا ماوصلت الرطوبة الى هذه المواد الغذائية المجففة ، فإن الميكروبات تعاود نشاطها ، وتسبب فساد هذه الأغذية .

أكسجين الهواء الجوى : Aerobic oxygen

يُكوِّن الأكسجين حوالى ٢٠% من الهواء الجوى ، وهو يعتبر من أهم الغازات المكونة له ، وللأكسجين ولغاز ثانى أكسيد الكربون ، تأثير كبير على نمو الكائنات وتكاثرها وتأقلمها ، فبواسطة الأكسجين الجوى تتم عمليات الأكسدة والإختزال ، وانتاج الطاقة ، والأيض الغذائى لجميع الكائنات الهوائية ، وقد وضح أن الأكسجين الحر (الهواء الجوى) لازم للحياة ، منذ أن عزل الأكسجين بواسطة بريستلى Priestley عام ١٧٧٤ ، وملاحظات لافوازييه Lavoisier عام ١٧٧٥ ، ورغم ذلك ، فقد أثبت باستير Pasteur عام ١٨٨١ ، أن بعض أنواع الخمائر والبكتريا ، يمكنها أن تنمو وتتكاثر فى عدم وجود الهواء ، ومن هنا أدخل باستير مصطلح Anaerobiosis ، (المعيشة اللاهوائية) ، ليعبر عن الحياة والتكاثر بدون أكسجين الهواء الجوى وقد كان ذلك إكتشافا مثيرا فى مجال العلوم البيولوجية ، وتحتاج التنمية اللاهوائية للميكروبات إلى طرق خاصة مناسبة .

وعلى ذلك ، فقد تحتاج الكائنات الدقيقة ، أو لاتحتاج ، لأكسجين الهواء الجوى ، وتتضمن تلك الكائنات ، أنواع عديدة من البكتريا [جدول ٤ (٢) – ٤] .

وتبعا لحاجة الكائنات الدقيقة للأكسجين الجوى ، فإنها تقسم الى الأقسام الأربعة التالية

١ – ميكروبات هوائية إجبارا : Strict aerobic microorganisms, Oxybiontic

يلزم لنمو وتكاثر هذه الميكروبات ، توفر أكسجين الهواء الجوى فى الوسط الذى تعيش به ، وإلا توقفت عن النمو ، وهى تستخدم الأكسجين كمستقبل نهائى للايدروجين والإلكترونات ، إذ أن النظام الإنزيمى بهذه الميكروبات ، بما يحويه من سيتوكروم ، له القدرة على نقل الإيدروجين والألكترونات الى الأكسجين الحر ، وبذلك تتمكن هذه الكائنات باستخدامها للأكسجين الحر ، من أكسدة المادة العضوية ، أو غير العضوية ، للحصول على الطاقة ، وعادة ماتتأكسد مادة التفاعل أكسدة كاملة إلى : ك أ٢ ، CO_2 ، يد٢أ ، H_2O ، وقد ينتج يد٢أ٢ H_2O_2 .

ويرجع أيضا ضرورة إحتياج كائنات هذا القسم للأكسجين ، إلى أنها لاتحتوى على إنزيمات التنفس اللاهوائى ، كما أن نواتج التنفس اللاهوائى تعتبر سامة لها .

جدول ٤ (٢) - ٤ : علاقة بعض أنواع البكتريا بأكسجين الهواء الجوى .

المجموعة الفسيولوجية	بعض الأجناس أو العائلات الممثلة
هوائية إجبارا تنمو فقط فى وجود الأكسجين الحر	*Bacillus* *Acetobacter*, *Azotobacter*, *Brucella*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, Myxobacteriales, Nitrobacteraceae, *Nocardia* , *Pseudomonas*, Streptomycetaceae, *Thiobacillus*, *Xanthomonas*
لاهوائية إجبارا تنمو فقط فى غياب الأكسجين الحر	*Clostridium* *Actinomyces*, Bacteroidaceae, Chlorobacteriaceae, *Desulfovibrio*, Thiorhodaceae
اختيارية للهواء تنمو فى وجود أو فى غياب الأكسجين الحر	*Alcaligenes*, Enterobacteriaceae, *Neisseria*, *Spirillum*, *Staphylococcus*
محبة للهواء بكمية قليلة تنمو في وجود كميات قليلة من الأكسجين الحر	*Lactobacillus*, *Leptospira*

٢- ميكروبات لاهوائية إجبارا : Strict anaerobic organisms, Anoxybiontic

هذه الميكروبات تنمو فقط فى غياب أكسجين الهواء الجوى حيث أن وجوده يميتها ، وتحصل هذه المجموعة على الطاقة ، من تحويل المواد ذات الطاقة العالية ، إلى مواد ذات طاقة أقل . أو تستخدم موادا تحتوى على أكسجين مرتبط (مثل النترات) ، لأكسدة المواد العضوية ، وهذه الكائنات لاتؤكسد المواد أكسدة كاملة ، كما فى حالة الميكروبات الهوائية ، بل تؤكسدها أكسدة جزئية إلى مركبات وسطية .

وقد فُسِّر نمو ميكروبات هذه المجموعة في غياب الأكسجين الحر الى مايلى :

أ - يعتبر الأكسجين سام لها ، إذ أن بعض إنزيماتها تثبط فى وجود الأكسجين الحر ، كما أن إنزيماتها تكون نشطة وهى فى الحالة المختزلة .

ب -لايستطيع نظامها الإنزيمى ، نقل الإيدروجين والالكترونات إلى الأكسجين الحر ، وعليها أن تستعمل موادا أخرى ، كمستقبل نهائى للإيدروجين والالكترونات .

ج- عدم إحتوائها على إنزيم الكاتاليز الذى يحمى الخلية من H_2O_2 ، (راجع التسمم الأكسجينى بالصفحة التالية) .

٣- ميكروبات إختيارية للهواء :Facultative organisms

هذه المجموعة من الميكروبات ، تستطيع النمو فى وجود ، أو فى غياب أكسجين الهواء الجوى ، فنظامها الإنزيمى يمكنها من ذلك ، وحسب درجة تفضيلها للأكسجين الحر Free oxygen ، أو الأكسجين المرتبط Combined oxygen ، تقسم إلى اختيارية هوائية ، أو إختيارية لاهوائية .

تستطيع أفراد هذه المجموعة ، أن تنمو هوائيا ، ولكنها لاتنتج H_2O_2 ، ولاتحتوى على كاتاليز ، وتتشابه أيضا مع الميكروبات اللاهوائية ، فى أنها لاتحتوى عادة ، على نظام السيتوكروم الذى يمكنها من استخدام الأكسجين الحر كمستقبل للإيدروجين والالكترونات .

إذا استعملت نفس المادة الغذائية فى التنمية الهوائية واللاهوائية للميكروب ، فإن النمو تحت الظروف الهوائية ، يقدر بحوالى ٢٠-٣٠ مرة قدر كمية النمو تحت الظروف اللاهوائية ، وسبب ذلك أن الطاقة الناتجة من تحليل وحدة مادة غذائية هوائيا ، يساوى ٢٠-٣٠ مرة قدر الطاقة المتولدة من نفس المادة لاهوائيا .

٤- ميكروبات محبة للهواء بكمية قليلة : Microaerophilic organisms

تنمو هذه الميكروبات فى وجود كمية ضئيلة من أكسجين الهواء الجوى بالوسط الذى تعيش فيه ، ويرجع ذلك إلى أن بعض الإنزيمات الموجودة بهذه الميكروبات ، تثبط فى وجود الأكسجين الحر ، كما فى حالة الميكروبات اللاهوائية ، ولكن بدرجة أقل .

الميكروبات المتحملة للهواء : Aerotolerant organisms

أغلب الميكروبات ليست هوائية إجبارا ، أو لاهوائية إجبارا ، ولكنها تقع فى حالة وسطية ، بحيث تتدرج الميكروبات المختلفة فى إحتياجها للأكسجين .

والبكتريا المتحملة للهواء Aerotolerant ، هى تلك البكتريا اللاهوائية التى تتحمل ، وتستطيع النمو فى وجود نسبة من الأكسجين ، أقل من تلك الموجودة فى الجو العادى .

التسمم الأكسجينى : Oxygen toxicity

الأكسجين عنصر هام فى تنمية البكتريا الهوائية ، وتعود أهميته إلى قدرته التأكسدية العالية ، حيث يعمل بكفاءة كمستقبل نهائى للإلكترونات ، فى عمليات الأيض الحيوية المنتجة للطاقة بالخلية ، المعروفة بالتنفس . ورغم تلك الأهمية ، فقد يكون للأكسجين تأثيرات ضارة على مكونات الخلية ، خاصة بالنسبة للبكتريا اللاهوائية المحبة للنمو فى وسط خالى من الأكسجين ، أو بالنسبة للبكتريا المحبة لكمية قليلة من الأكسجين ، خاصة وأن هذه الأنواع من البكتريا ، تفتقر الى الوسائل التى تحميها من تأثيرات الأكسجين التأكسدية الضارة ، كانزيم الكاتاليز الموجود بالبكتريا الهوائية .

تعرف الاثار الضارة للأكسجين على الخلايا ، باسم التسمم الأكسجينى ، ومن هذه الاثار الضارة :

١- تثبيط الانزيمات الخلوية

يؤكسد الأكسجين الجوى الانزيم نفسه ، أو يؤكسد بعض المجموعات المختزلة الموجوده به ، مثل مجموعة SH- ، وبذلك يفقد الانزيم نشاطه .

ومثالا لذلك انزيم النتروجينيز المثبت لنتروجين الهواء الجوى ، إذ يفقد هذا الانزيم نشاطه ويتوقف عن التثبيت ، حتى فى وجود كميات قليلة من الأكسجين بالوسط .

٢- ضرر الخلية من نواتج الأكسجين السامة

تؤدى بعض التفاعلات الحيوية بالخلية ، المتضمنة الأكسجين الجزينى ، الى إضافة الكترون إلى جزىء الأكسجين ، وتكون ($O_2.^-$) ، وهو مايعرف بالأكسجين الثلاثى Triplet oxygen ، أو بشق فوق الأكسيد Superoxide radical ، $O_2 + e^- \longrightarrow O_2.^-$

شق فوق الأكسيد المتكون ، عامل مؤكسد نشط ، وهو قادر على إحداث تفاعلات أكسدة ، لايستطيع الأكسجين الجزينى القيام بها ، مما يؤدى إلى تثبيط أنشطة الخلية ، وتلف مكوناتها ، وذلك نتيجة تكون مواد سامة للخلية مثل فوق أكسيد الإيدروجين H_2O_2 ، وشقوق ايدروكسيلية Hydroxyl radicals (OH.) ، حسب التفاعلات الأتية :

$$1)\ 2O_2.^- + 2H^+ \longrightarrow O_2 + H_2O_2$$

$$2)\ O_2.^- + H_2O_2 \longrightarrow O_2 + OH^- + OH.$$

البكتريا الهوائية والإختيارية ، بعكس البكتريا اللاهوائية ، تمتلك الوسائل التى تحمى بها نفسها من تلك التسممات الأكسجينية ، وذلك بإحتوائها على إنزيمات مثل Superoxide dismutase ، الذى يحول $O_2.^-$ الى H_2O_2 معادلة (١) ، وانزيم الكتاليز الذى يحول H_2O_2 إلى H_2O وأكسجين (معادلة ٢) ، وانزيم البيروكسيديز الذى يحول H_2O_2 الى ماء ومواد مؤكسدة (معادلة ٣) .

$$2\,O_2^{\cdot -} + 2H^+ \xrightarrow{\text{Dismutase}} O_2 + H_2O_2 \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad (1)$$

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{Catalas}} 2H_2O + O_2 \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad (2)$$

$$H_2O_2 + \text{reduced substrate} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} 2H_2O + \text{Oxidized substrate} \quad (3)$$

مواد مختزلة — مواد مؤكسدة

جهد الأكسدة والإختزال : Oxidation-Reduction potential (O/R potential)

تحصل الخلية على الطاقة اللازمة لها من المواد الغذائية ، عن طريق سلسلة من التفاعلات الكيميائية (أكسدة واختزال) ، التى تتم بداخل الخلية أو على سطحها .

وفى تفاعلات الأكسدة والإختزال ، فإن مادة تؤكسد ، وأخرى تختزل ، فتتحول المادة من مادة مؤكسدة إلى مادة مختزلة ، لإكتسابها الإلكترونات أو الإيدروجين (مثل الحديديك والحديدوز ، أو حامض الفيوماريك والسكسنيك) ، نتيجة لانتقال الإلكترونات من مادة لأخرى ، أو من نظام لآخر .

بسبب فرق جهد الدفع الكهربائى Electromotive potential ، ينشأ فرق فى جهد الأكسدة والإختزال بين المواد المتفاعلة ، رمزه Eh ، ويمكن أن يقاس هذا الفرق فى الجهد كهربائيا بطرق فرق الجهد الكهربائى Potentiometerically ، ويعبر عنه بالفولت Eh in volts أو يقاس بطريقة لونية Colorimetrically ، أو بإضافة أدلة إلى البيئة ، مثل دليل عباد الشمس أو أزرق المثيلين ، وعادة فإن الأدلة المستعملة ، تكون ملونة فى الحالة المؤكسدة ، وعديمة اللون فى الحالة المختزلة ، وكلما زاد رقم الـ Eh بالنسبة لنظام ما ، دل ذلك على قدرة هذا النظام على استقبال الإلكترونات من نظام آخر ، ذو Eh أقل .

يلعب جهد الأكسدة والإختزال دورا هاما فى التفاعلات البيولوجية ، ويوضح رقم الـ Eh ، حالة البيئة من حيث جهد الأكسدة والإختزال ، وهذا يؤثر على نمو ونشاط الميكروبات ، فوجود مواد مؤكسدة بالبيئة مثل نترات البوتاسيوم KNO_3 ، تجعل البيئة مؤكسدة . فيرتفع رقم الـ Eh ، للبيئة ، فإذا وجدت هذه المواد المؤكسدة ، مع مواد أخرى قابلة للأكسدة ، فإن بعض الميكروبات الهوائية يمكنها أن تنمو فى وجود كمية قليلة من الأكسجين .

وبالعكس ، فإنه إذا وضعت مواد مختزلة فى البيئة ، كالكبريتوز ، الثيوجليكولات ، السستنين Cysteine ، الجلوتاثيون Glutathione ، فإنها تجعل البيئة مختزلة ، فينخفض رقم الـ Eh ، وبذلك يصبح مناسبا لنمو الميكروبات اللاهوائية ، دون الحاجة لإبعاد الأكسجين الجوى ، أو قفل الوعاء .

تحتاج البكتريا اللاهوائية فى نموها ، إلى وسط خالى من الهواء ، أو ذو Eh منخفض (أى وسط مختزل) ، وأغلب البكتريا اللاهوائية تحتاج الى وسط ذو Eh = -٠,٢ فولت مثل أنواع من جنس *Clostridium* ، غير أن بعض أنواع البكتريا اللاهوائية شديدة الحساسية للأكسجين الجوى ، مثل أفراد جنس *Bacteroides* تحتاج إلى Eh = -٠,٤ فولت أو أقل ، علما بأن Eh لنظام $NAD^+/NADH + H^+$ عند pH ٧ ودرجة حرارة ٢٥°م = - ٠,٣٢ فولت .

ثانى أكسيد الكربون

يلعب غاز ثانى أكسيد الكربون ، دورا هاما فى عمليات الأيض الغذائى الخاصة بالميكروب ، لذلك ، يتأثر نمو الميكروب بنسبة ك أ٢ الموجودة بالجو المحيط . فهذا الغاز لازم لمعظم أنواع البكتريا، خليطة أو ذاتية التغذية ، وعادة مايتوقف نمو البكتريا إذا ماوصل تركيز ك أ٢ فى الجو المحيط إلى ١٠% أو أكثر . ويمكن للبكتريا ذاتية التغذية أن تعيش فى جو به كمية كبيرة من ك أ٢ (حوالى ٥% - ١٠%) ، بينما كمية صغيرة منه (٠,٠١ - ٠,٠٢%) ضرورية لنمو كثير من البكتريا خليطة التغذية ، ويشذ عن ذلك *Brucella & Neisseria* التى تحتاج إلى ك أ٢ بتركيز حوالى ٥-١٠% ، للنمو الجيد . ويستعمل عند تنمية هذه البكتريا ، محاليل منظمة خاصة ، أو حضانات خاصة ، تسمح بتوفير جو غنى بثانى أكسيد الكربون ، يحيط بالميكروب .

الرقم الإيدروجينى ق يد : pH

الرقم الإيدروجينى ، ويرمز له بالرمز ق يد أو pH ، هو اللوغاريتم السالب لتركيز أيون الإيدروجين بالمحلول ، وهو ناتج لوغاريتمى يحدد بالمعادلة

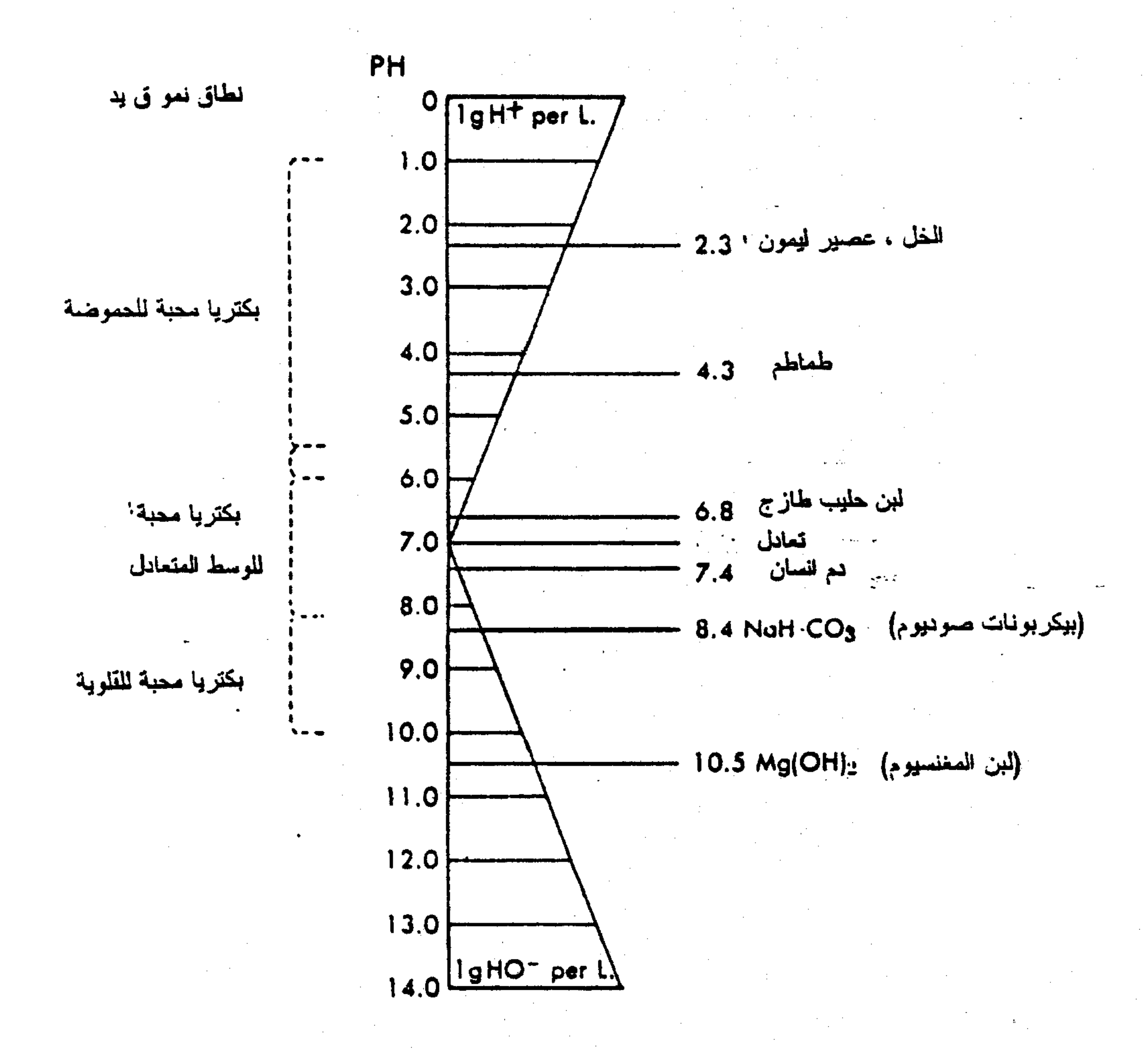
$$\text{ق يد} = \text{لو} \frac{1}{\text{تركيز يد}^+} = -\text{لو}\,(\text{يد}^+)$$

يدل الرقم على حموضة أو قلوية المحلول ، وتقع وحداته على تدريج يتراوح بين ١ إلى ١٤ ، ويعنى الرقم ٧,٠ لمحلول ما ، أن أيون الإيدروجين يد$^+$ ، يوجد فى المحلول بتركيز قدره ١ × ١٠$^{-٧}$ جرام أيونات إيدروجين فى اللتر (أى ١ × ١٠$^{-٧}$ مول أيونات ايدروجين/لتر) ، وهذا الرقم هو تركيز أيون الأيدروجين بالماء النقى عند درجة ٢٥°م ، وهو يمثل حالة التعادل على تدريج الرقم الإيدروجينى ، وهذا يعنى أن المحلول ذو الرقم الإيدروجينى ٧,٠ ، هو محلول متعادل ، وأن المحاليل التى أرقامها أقل من ٧,٠ هى محاليل حامضية ، والتى أرقامها أكبر من ٧,٠ محاليل قلوية ، وكلما ابتعد الرقم عن ٧,٠ بالزيادة أو النقص ، كلما زادت قلوية أو حموضة المحلول .

تأثير الرقم الإيدروجينى

يؤثر الرقم الإيدروجينى للبيئة النامى بها الكائن الدقيق ، تأثيرا كبيرا على نموه ونشاطه ، فالبيئات الشديدة الحامضية ، أو الشديدة القلوية ، توقف نمو الخلايا الميكروبية . وقد

تميتها ، نتيجة لتخثر البروتين الإنزيمي بالخليـــة ، وتوقفــه عــن العمـــل ، ويوضـــح شـــكل [٤ (٢) – ٣] بعض أرقام الإيدروجين ذات الأهمية فى مجال الميكروبيولوجى .

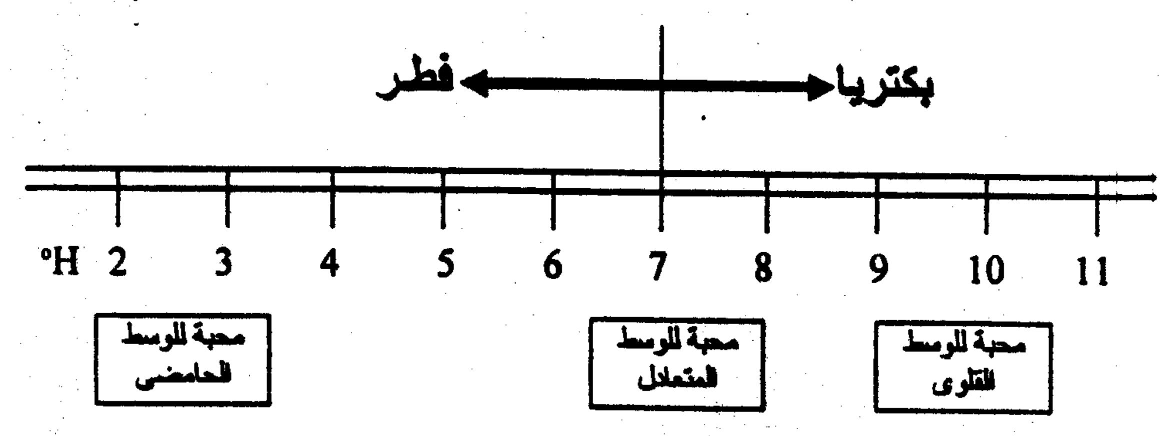


شكل ٤ (٢) – ٣ : بعض أرقام ق يد pH الهامة فى مجال الميكروبيولوجى ، الخطوط المائلـــة البادئة من رقم ٧,٠ ، تعبر عن الزيادة فى تركيز أيون (يد$^+$) أو (أيـــد)$^-$ ، حتـــى يصل لأقصاه ، وهو ١ جم فى اللتر .

From: **Frobisher, 1974**

وكقاعدة عامة ، فإن إرتفاع درجة الحرارة ، يؤدى إلى زيادة تأين الأحماض ، وعلى ذلك ، فإن المحلول المتعادل المناسب لنمو معظم الكائنات الدقيقة عند درجة حرارة الغرفة (٢٥°م) ، سيصبح حامضيا وضارا بالنمو ، عند التحضين على درجة معتادة مثل ٣٧°م . وبالإضافة الى ذلك فإن التأثيرات الضارة بالنمو ، تزداد بزيادة حموضة المحلول ، على سبيل المثال ، فإن تخثر البروتين بالحرارة ، يزداد فى المحاليل الحامضية عن المتعادلة ، وعلى ذلك ، فإننا نجد أن اللبن ذو الحموضة البسيطة (حموضة أقل من أن تحس بالتذوق أو بالرائحة)، يتجبن بمجرد التدفئة ، وهذا يعنى أيضا ، أنه كلما زادت درجة حموضة الوسط ، كلما قلت درجة الحرارة اللازمة لقتل الميكروب .

والإنزيمات أيضا ، شديدة الحساسية للتغير فى الحموضة ، كما فى حالة الحرارة ، ونجد أن للإنزيمات أرقام إيدروجينية صغرى ومثلى وعظمى ، وماينطبق على الإنزيمات ، ينطبق على الخلايا الحية ، وعلى ذلك ، فإننا نجد أن لكل ميكروب ، ثلاث درجات حموضة - كما فى حالة الحرارة - صغرى (لايحدث عند أقل منها ، نمو) ، ومثلى (يحدث عندها أقصى نمو) ، وعظمى (لايحدث عند أعلى منها ، نمو) . ويتراوح نطاق النمو للميكروب مابين الصغرى والعظمى ، هذا على إعتبار أن جميع الخواص البيئية الأخرى مناسبة [شكل ٤ (٢) - ٤] .



شكل ٤ (٢) - ٤ : نطاق الرقم الإيدروجينى المناسب لنمو أغلب أنواع البكتريا والفطريات

From : **Schlegel H.G. (1995). General Microbiology. Cambridge Univ.** Press, New York.

البيئة والرقم الإيدروجينى

نظرا لتأثر الميكروب النامى برقم ق يد البيئة ، فإنـه يجـب العنايـة بضبـط الرقـم الإيدروجينى للبيئة التى سينمو بها الميكروب ، ويتوقف هذا الرقم على نوع الميكروب الجـارى تنميته ، وهو عادة حوالى ٧,٠ لمعظم الميكروبات ، وقد يتراوح فى بعض الحـالات بيـن ٤,٥ الى ٨,٠ ، وفى بعض الأنواع الميكروبية ، قد يزيد أو يقل عن ذلك كثيرا .

فمعظم الخلايا البكتيرية ، تفضل النمو فى وسط متعادل ، ذو رقم ايدروجينى يـتراوح بين ٦ الى ٨ ، وهناك أنواع مقاومة للحموضة المرتفعـة Aciduric مثـل *Lactobacillus*, و *Streptococcus lactis* ، التى تنمو وتتحمل حموضة وسط ذو رقم ايدروجينى ٤,٠ أو أقـل ، وهناك الأنواع المحبة للحموضة العالية Acidophiles ، وهى تنموا جيـدا فـى وسـط عـالى الحموضة ، مثل بكتريا *Thiobacillus thiooxidans* ، التى يصل حموضـة الوسـط المثلـى لنموها إلى ق يد ٢,٠ ، وهناك بكتريا محبة للوسط القلوى Alkalophiles ، مثل بكتريا اليوريـا وبكتريا الكوليرا الأسيوية ، التى تفضل النمو فى وسط قلوى ، رقمه الإيدروجينى ٩,٠ .

يفضل كثير من الخمائر والفطريات ، النمو فى الوسط الحـامضى ، فمعظـم أنـواع الخمائر تنمو جيدا ، فى وسط رقمه الإيدروجينى يتراح من ٣ الى ٥ ، كما أن الفطـر يتحمـل درجة حموضة أقل ، لتصل الى ١,٦ ، وإن كان له القدرة على النمو فى نطـاق متسـع مـن درجات الرقم الإيدروجينى .

المواد المنظمة : Buffers

عندما ينمو الميكروب فى بيئة متعادلة ، فإن نواتج النمو الحامضية أو القلوية ، تغـير من الرقم الإيدروجينى للبيئة ، فالأنواع البكتيرية ، مثلاً ، التى تحلل الكربوهيدرات ، تنتج عـادة أحماضا عضوية تخفض من الرقم الإيدروجينى للوسط ، بينما تلك التى تحلل البروتينات ، تنتـج موادا قاعدية ترفع الرقم الإيدروجينى للوسط . وتراكم هذه النواتج للأيض الغذائى فى البيئـة ، يُحد من النمو ، وقد يوقفه نهائيا .

لذلك ، يضاف للبيئة ، بعض المواد المنظمة للحموضة ، وهى عبارة عن مركبات ، أو خليط من مركبات ، لها القدرة على معادلة التغيير الذى يحدث بـالرقم الإيدروجينـى للبيئـة ، وبذلك ، يظل الرقم الإيدروجينى للبيئة ثابتا حول حد معين ، ومناسـبا لنمـو الكـائن الجـارى تنميته . ويتوقف المدى الممكن تنظيمه للبيئة باستعمال المنظمات ، علـى الـهدف مـن البيئـة المستعملة ، وعلى قدرة المواد المنظمة المستعملة .

ويمكن تحضير المخاليط المنظمة لأى رقم ايدروجينى مطلـوب بالبيئـة ، باسـتعمال المواد المناسبة ، فمثلاً يمكن حفظ الرقم الإيدروجينى للبيئة عند رقم ٧,٢ بإضافة خليط مكـون من

0.1 M NaCl, 0.001 ethylene diamine tetra acetate (EDTA) and 0.5 M tris (hydroxy methyl) amino methane

ويشار إلى هذا الخليط عادة باسم Tris .

ومن المواد المنظمة للرقم الإيدروجينـــــى ، والتــي تســتعمل بكــثرة مــع البيئــات البكتريولوجية ، منظم الفوسفات Phosphate buffer ، وهو خليــط مــن HPO_4^{2-} , $H_2PO_4^{1-}$ ويعمل عند ق يد ٦,٨ ، ومن المواد المنظمة للرقم الإيدروجينى أيضا ، وتدخل عادة فى تركيب مكونات البيئة الغذائية ، المواد الأمفوتيرية مثل الأحمـــاض الأمينيــة وبلمراتــها كـالبروتيوز والببتون وغيرها . فهذه المواد يدخل فى تركيبها كل من مجموعة الحامض الأمينى ومجموعــة الكربوكسيل ، والتى لها القدرة على الإتحاد بالحامض أو بالقلوى ، كما فـــى حالــة الحـامض الأمينى Glycine ، الذى له القدرة على الإتحاد بحامض HCl أو بالقلوى NaOH .

فى مزارع البكتريا التى تنتج أحماضا ، يضاف للبيئة موادا قلوية غير قابلة للذوبــان ، مثل كربونات الكالسيوم أو كربونات المغنسيوم . أما فى مزارع البكتريا التى تنتج موادا قلويــة (مثل تلك التى تختزل النترات والكبريتات) ، فليس من السهل التخلص مـــن تأثيرهـــا القلــوى بالمزرعة ، إلا أنه من المعتاد إضافة فوسفات أحادى البوتاسيوم ، أو فوسفات ثنائى البوتاسيوم ، كل بمفرده ، أو الإثنين معا كخليط ، إلى البيئة البكتيرية ، بغرض تنظيم الرقم الإيدروجينى .

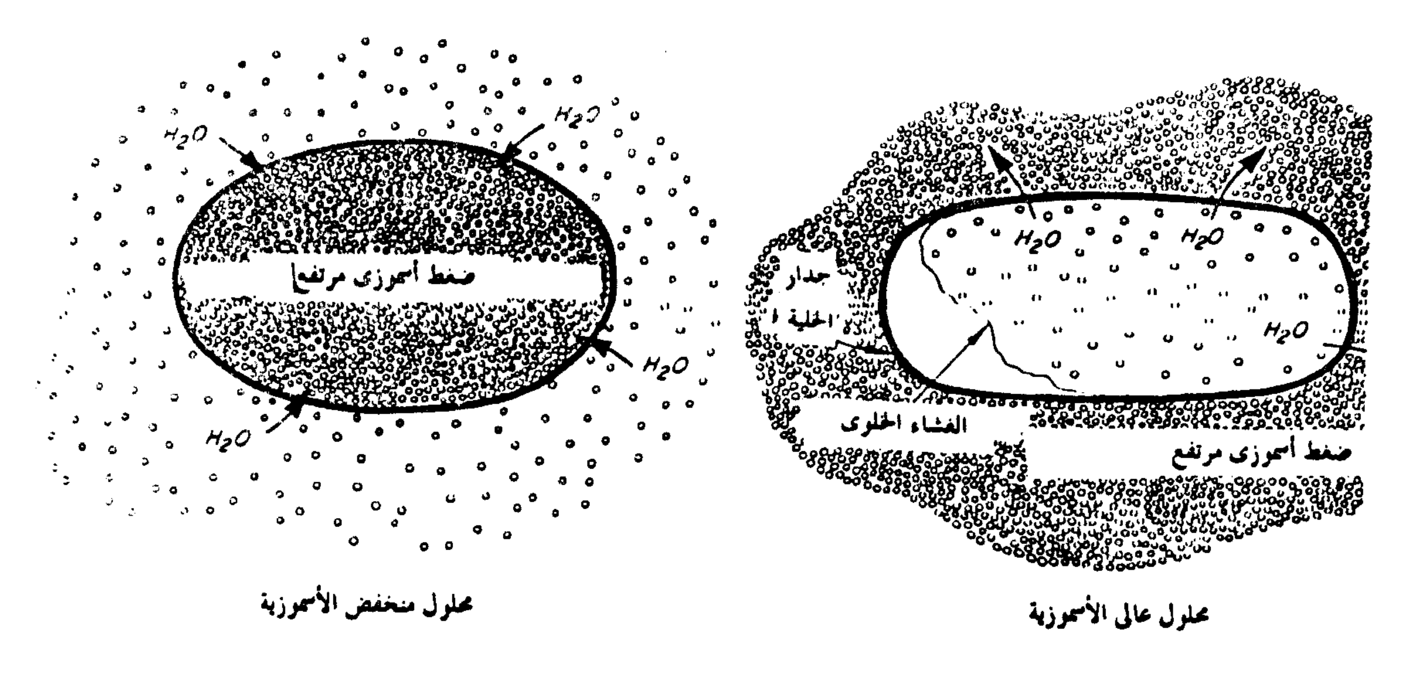
الضغــط الأسموزى : Osmotic pressures

الأسموزيـــة

الأسموزية Osmosis ، هى عبارة عن إنتشار المواد (عادة المذيب) ، بيـــن محلوليــن مختلفى التركيز ، خلال غشاء شبه منفذ ، نتيجة لإختلاف الضغط الإنتشارى لهذه المواد علـــى جانبى الغشاء ، وبذلك تعمل هذه الظاهرة على معادلة تركيز المواد المذابة على الجانب الاخــر من الغشاء ، حيث ينتقل المذيب وهو الماء من المحلول الأقل تركيــز إلــى المحلــول الأعلــى تركيز ، وفى نفس الوقت يحدث العكس بالنسبة للمواد المذابة . وهذا هو مـــايحدث فـــى حالــة الخلايا ، فالخلايا لها غشاء سيتوبلازمى شبه منفذ، ونتيجة لإختلاف الضغط الانتشارى للمـــواد على جانبى الغشاء (أى داخل وخارج الخلية) ، تحدث حالة الانتشـــار والأســموزية ، ويتكــون الضغط الاسموزى ، وهو الضغط اللازم لمنع زيادة تغير تركيز محلول ما ، نتيجة دخول المـــاء إليه ، عبر غشاء شبه منفذ .

يؤثر الضغط الأسموزى ، تأثيرا مباشرا ، على سرعة وإتجـــاه تيـــار المـــاء ، مـــن البيئة إلى الميكروب أو بالعكس ، وبذلك يؤثر على مقدار اســـتفادة الميكـــروب مـــن الرطوبـــة [شكل ٤ (٢) – ٥)] .

كما يتحكم فى دخول وخروج المحاليل للخلية الميكروبية ، الغشاء الســيتوبلازمى شـــبه المنفــذ والجدار الخلوى للخلية ، وفى هذا الخصوص ، فإن درجة تأثر البكتريا بالضغط الأســـموزى ، أقل من درجة تأثر الخلايا الميكروبية الأخرى ، والخلايا النباتية والحيوانية ، بســـبب تركيــب الجدار الخلوى الصلب للبكتريا ، الذى يعمل إلى حد كبير ، كواق مـــن الضغــوط الأســموزية Osmotic barrier ، كما أن البكتريا المسنة أقل تأثرا من الخلايا حديثة العمر .



شكل ٤(٢) – ٥ : العلاقة بين الضغط الأسموزى للبيئة وحركة الماء الى داخل وإلى خارج الخلية .

الضغط الأسموزى للبيئة

إذا وضعت الخلية الميكروبية فى بيئة ، وكان الضغط الأسموزى لمحلول البيئة ، مماثلاً للضغط الأسموزى بداخل الخلية ، سمى محلول البيئة سوى الأسموزية Isotonic ، وفى هذه الحالة ، لايحدث إنكماش أو انتفاخ للخلية .

أما إذا كان الضغط الأسموزى لمحلول البيئة ، أعلى من الضغط الأسموزى بداخل الخلية ، سمى المحلول عالى أو مرتفع الأسموزية Hypertonic ، وفى هذه الحالة فإن الماء يخرج من الخلية ، ليتعادل التركيز فى الداخل والخارج ، وتدخل الأملاح إلى الداخل لحفظ التوازن ، ولكن معدل خروج الماء من الخلية يكون أكبر من معدل دخوله إليها ، فينكمش البروتوبلازم ويحدث بلزمة للخلية (إنكماش أسموزى Plasmolysis) ، ويؤدى هذا إلى جفاف الخلية ، وتوقفها عن النمو ، وقد يسبب موتها .

أما إذا كان الضغط الأسموزى لمحلول البيئة ، أقل من الضغط الأسموزى بداخل الخلية ، سمى المحلول ناقص أو منخفض الأسموزية Hypotonic ، وفى هذه الحالة ، يدخل الماء إلى الخلية ، وفى نفس الوقت تخرج منها الأملاح ، ولكن الماء يندفع إلى داخل الخلية ، بنسبة أكبر من معدل خروجه منها ، مما يؤدى إلى انتفاخها (انتفاخ أسموزى Plasmoptysis) . ومثل هذا المحلول ، غير مناسب لنمو الميكروب ، وقد يؤدى إلى هلاكه بإنفجار الخلية ، إذا مازاد الانتفاخ عن حد معين .

تحمل الميكروبات للضغوط الأسموزية :

تحتاج معظم خلايا البكتريا أثناء نموها ، إلى محاليل سوية الضغط الأسموزى . وعموما ، تختلف البكتريا فى درجة تحملها للتركيزات الزائدة من الأملاح المختلفة ، كما يختلف التركيز المحدد للنمو ، بإختلاف نوع الكائن ، ونوع الملح المستعمل . ويعتبر تركيز أكثر من ١,٠% ملح بالبيئة ، تركيزا ضارا بمعظم أنواع البكتريا ، ولاينطبق هذا على بكتريا البحار والمحيطات Marine bacteria ، حيث تصل نسبة الملوحة بمياه البحر إلى ٣,٥ - ٤,٠% .

وتعتبر بكتريا البحار ، من البكتريا المحبة للملوحة Halophiles ، فهى تمتاز عن بكتريا المياه العذبة ، فى قدرتها العالية على تحمل تركيزات مرتفعة من الأملاح (تتراوح بين ٢ إلى ١٥%) ، ويلزم إضافة نسبة عالية من الملح إلى بيئتها ، لكى تنمو جيدا . وقد وجد أن البكتريا الموجودة بالبحيرات الملحية العظمى بأمريكا ، وفى البحر الميت بالأردن ، تتحمل تركيز ٢٨% ملح ، وتنمو البكتريا المحبة للملوحة على الجلود المملحة ، وفى الأغذية المملحة ، كاللحوم والأسماك والمخللات ، ويمكن عزلها من هذه المواد أو من غيرها من المواد ذات التركيز المرتفع من ملح الطعام . وبعض هذه البكتريا يسبب فساد هذه المواد .

تستطيع بعض أنواع الخمائر والفطريات النمو فى محاليل بها نسبة عالية من السكر ، كالعسل الأبيض والمربى ، وقد تسبب فسادها ، وهى كائنات محبة للضغط الأسموزى المرتفع Osmophiles ، حيث تفضل النمو فى الوسط العالى الأسموزية ، عن الوسط ذو التركيزات العادية ، فمن الفطريات مثل : *Aspergillus niger, Alternaria humicola* ، مايعطى أحسن نمو بالبيئة عند تركيز ٦٠% سكروز ، وتسمى هذه الفطريات محبة للضغط الأسموزى المرتفع Highly osmophiles ، ومنها مثل *Aspergillus flavus, A. nidulans* ، التى تعطى أحسن نمو عند تركيز ٢٠-٤٠% سكروز ، وتسمى هذه الفطريات متحملة للأسموزية بقلة Weak osmotolerant .

يلاحظ أن الكائنات الدقيقة ، التى تتحمل ضغطا أسموزيا مرتفعا ، تستطيع أن تنمو فى بيئة ذات نشاط مائى منخفض (أنظر جدول ٤ (٢) - ٣] ، مثل البكتريا المحبة للملوحة ، والخمائر المحبة للضغط الأسموزى المرتفع ، والفطريات المحبة للجفاف ، ورغم أنها تسميات مختلفة ، إلا أن هذه الكائنات جميعها أوزموفيلية Osmophiles ، بمعنى أنها محبة للضغط الأسموزى المرتفع .

الاستفادة العملية

يثبط نمو أغلب الميكروبات ، فى وجود نسبة عالية من الملوحة (١٠-١٥% ملح طعام) ، أومن السكر (٥٠-٧٠% سكروز) ، ويعتبر هذا التأثير التثبيطى للضغط الأسموزى المرتفع ، الأساس فى حفظ الأغذية بالتمليح ، أو بإضافة السكر ، مثل إضافة الملح إلى اللحوم والأسماك والمخللات ، وإضافة السكر إلى المربات والجيلى والألبان المكثفة ، وغيرها من الأغذية ، فباستعمال محاليل ذات ضغط أسموزى مرتفع ، يحدث تجفيف للخلايا الميكروبية ، وتتوقف عن النمو والنشاط ، فتبقى ساكنة ، أو تموت فى بعض الحالات .

الجذب (التوتر) السطحى : Surface tension

الجذب السطحى ، هو قوة الجذب التى تعمل على تماسك الجزيئات عند سطح السائل ، وتقاس هذه القوة بواسطة جهاز Tensiometer ، ووحدتها الداين Dyne للسنتيمتر المربع . وبتأثير قوة الجذب السطحى ، يعمل سطح المحلول كغشاء مرن .

يبلغ الجذب السطحى للماء النقى عند درجة الحرارة العادية (حرارة الغرفة) ، حوالى ٧٣ ، وللكحول حوالى ٢٨ داين/سم٢ ، ووجود المواد الغذائية فى الماء ، أو إضافتها إليه ، يسبب إنخفاض الجذب السطحى ، حيث تتراوح هذه القوة ، فى أغلب البيئات المزرعية المائية ، مابين ٤٥ الى ٦٥ داين/سم٢ ، وهو يعتبر مرتفع نسبيا ، غير أنه فى هذا النطاق ، يمكن لمعظم أنواع الكائنات الدقيقة النمو والحياة ، إذ أنها تفضل النمو فى بيئات ذات قوة جذب سطحى مرتفع نسبيا .

هناك بعض المواد ، إذا ماأضيفت للبيئة ، فإنها تزيد من قوة الجذب السطحى ، مثل الفحم Charcoal ، وكلوريد الكالسيوم . كما أن هناك الكثير من المواد ، التى تقلل من قوة الجذب السطحى للبيئة إذا أضيفت إليها ، وتسمى مخفضات الجذب السطحى Surface tension reducers, Surfactants ، مثل الصابون والمنظفات الصناعية ، والإيثانول والجلسرول ، وأملاح الصفراء ، والأصباغ ، والأحماض العضوية ، والسيروم والببتونات وبعض المضادات الحيوية ، كما أن التسخين يقلل من قوة الجذب السطحى .

تأثير الجذب السطحى

يؤثر الجذب السطحى للبيئة ، على نمو الميكروبات ، خاصة تلك التى تنمو على سطح البيئة السائلة فى شكل غشاء Pellicle ، حيث أن الجذب السطحى ، هو الذى يعمل على حفظ الغشاء الميكروبى المتكون على سطح البيئة .

وقد لوحظ أنه عند إنخفاض الجذب السطحى للبيئة عن ٤٠ داين/سم٢ ، فإن بكتريا مثل *B. subtilis* ، أو بعض الخمائر المكونة للغشاء على السطح لاتكون هذا الغشاء ، ويكون نموها منتشرا بالبيئة السائلة . وقد يتأثر أيضا مظهر الميكروب بسبب الجذب السطحى المنخفض للبيئة ، فيزداد الميكروب فى الحجم ، أو الطول ، وقد يتوقف عن التجرثم ، ويبطؤ فى عملية الانقسام والتكاثر .

ويرتبط الجذب السطحى أيضا بالإبتلال Wetting ، حيث لوحظ أن المنظفات ، تقلل من قوة الجذب السطحى للسائل ، فتساعد بذلك على زيادة الإبتلال ، وإزالة القاذورات والميكروبات .

وهناك بعض المضادات الحيوية مثل Polymyxin & Subtilin ، تتكون من عديد الببتيدات ، وهذه المضادات تقلل من قوة الجذب السطحى ، مما يؤدى إلى تلف جدار الخلية الميكربية ، لذلك تستعمل فى العلاج ، خاصة ضد البكتريا الموجبة لصبغة لجرام .

تختلف الميكروبات بعضها عن بعض ، فى مدى التأثر بقوة الجذب السطحى ، وتستخدم هذه الخاصية فى تحضير بعض البيئات الإنتقائية . فالأنواع البكتيرية ، التى تستطيع

أن تنمو فى بيئات ذات قوة جذب سطحى منخفض ، مثل بكتريـا القولـون وبكتريـا حـامض اللاكتيك ، يضاف إلى بيئتها المواد المناسبة ، التى تقلل من قوة الجذب السطحى ، مثل أمـلاح الصفراء (عند تنمية بكتريا القولون) ، ومادة Tween 80 أى Sorbitan mono-oleate (عنـد تنمية اللاكتوباسلس) ، وبذلك تتوقف عن النمو البكتريا الأخرى التى لاتستطيع تحمل الإنخفـاض فى قوة الجذب السطحى ، والتى قد تتحلل خلاياها نتيجة رشح محتوياتها الداخلية إلـى خـارج الخلية ، مثل بكتريا الإلتهاب الرئوى ، التى لاتتحمل قوة جذب سـطحى للبيئـة أقـل مـن ٥٠ داين/سم٢ .

الضغـــط : Pressure

تعيش معظم الكائنات الدقيقة ، وتقوم بنشاطها ، عند الضغط الجوى العادى (١٥ رطـل / بوصة٢ أى عند واحد ضغط جوى) ، ولاتؤثر عليها تغيرات الضغوط التى تحدث يوميا فـى الضغط الجوى العادى .

تتحمل البكتريا الأرضية مثل *Ps. fluorescens* و *B. subtilis* ، ضغطاجويا يصـل إلى ٤٠٠ ضغط جوى (حوالى ٦٠٠٠ رطل/بوصة٢) على درجة ٣٠°م ، وتتحمـل الضغـوط العالية ، االبكتريا التى تعيش فى آبار البترول ، والبكتريا البحرية التى تعيش فى أعماق البحـار مثل *Ps. xanthochrus*, *Ps. submarinus* ، فهى تنمو طبيعيا تحت ضغط جوى يتراوح مـابين ٣٠٠ الى ٥٠٠ . ومن أنواع البكتريا البحرية ، مايحتاج فى نموه إلى ضغط جوى يتراوح مابين ٧٠٠ الى ١٠٠٠ ضغط جوى ، وتسـمى هـذه الأنـواع محبـة للضغـط المرتفـع إجبـارا Obligate barophiles .

قد تغير البكتريا من بعض صفاتها ، عند تغير الضغط الواقع عليها ، فتتحول مثلاً مـن الشكل العصوى عند النمو تحت الضغط الجوى العادى ، إلى خيوط طويلة عند نموهـا تحـت الضغط الجوى المرتفع . ويعود ذلك ، إلى أن الضغط العالى ، يعيـق عمليـات التحـول فـى البروتوبلازم (سول $\rightleftharpoons$ جل) ، فيمنع عملية زيادة لزوجة الـبروتوبلازم ، اللازمـة لتكوين الأغشية السيتوبلازمية أثناء الإنقسام الخلوى ، على أنه عندما يعاد الخيط البكتيرى إلـى ظروف الضغط العادية ، فإنه يتجزأ ، ليعطى المظهر العصوى .

الضغوط الجوية المرتفعة جدا (ألف ضغط جوى وأكثر) ، قد توقـف نمـو البكتريـا الاعتيادية وتميتها ، كما يحدث عند تعرض *E. coli* إلى ألف ضغط جوى . ويعود ذلك إلى تلف بعض البروتينات والإنزيمات الخلوية ، وعدم قدرة البكتريا على انتاج بعض الانزيمـات مثـل Dehydrogenases تحت الضغط الجوى المرتفع جداً .

التأثير الديناميكى للمعادن الثقيلة : Oligodynamic action of heavy metals [*]

لوحظ أن المحاليل المخففة جدا لبعض المعادن الثقيلة، لها تأثير قاتل على الميكروبات. على سبيل المثال ، فقد وجد أن الطحلب الأخضر *Spirogyra* يموت عندما يوضع فى ماء يحتوى على فضة بتركيز ١ جزء فى ١٠٠ مليون جزء ماء ، كما أن النحاس بتركيز ١ جزء فى ٧٧ مليون جزء ماء ، قاتل لبعض أنواع الطحالب .

فى هذه التخفيفات العالية من المعادن ، لاينتظر حدوث تفاعل كيميائى بين المعدن وبروتين الكائن الدقيق ، وبذلك فإن التأثير القاتل الذى لوحظ ، لايعود إلى تأثير المعدن الكيميائى السام ، بل إلى التأثير الديناميكى للمعدن ، وعلى ذلك ، يمكن تعريف التأثير الديناميكى للمعادن ، بأنه التأثير السام الناتج على الخلايا الحية ، من المحاليل المخففة جدا لبعض المعادن الثقيلة .

وبسبب التأثير الديناميكى للمعادن ، فإن الأوعية المصنوعة من سبائك النحاس، الزنك، الصفيح ، النيكل ... الخ ، تعتبر غير صالحة لجمع عينات مياه ، أو حفظ مياه بها ، لغرض التحليل الميكروبيولوجى ، لما لهذه المعادن من تأثير ديناميكى قاتل على الميكروبات .

ملاحظة التأثير الديناميكى للمعادن

يمكن ملاحظة هذا التأثير ، بوضع قطعة من العملة (فضية أو نحاسية) ، فى وسط طبق معقم ، ثم تغطية العملة وقاع الطبق ، بطبقة من الأجار المغذى ، الملقح بكثافة ببكتريا *E. coli* ، ثم تحضين الطبق على درجة ٣٧°م لمدة ٤٨ ساعة .

ينتشر بالطبق ، كميات قليلة من أيونات معدن العملة ، بتركيز أجزاء فى المليون ، ويقل التركيز تدريجيا كلما إبتعدنا عن العملة . وسنلاحظ بعد التحضين ، أن البكتريا غير نامية فى المنطقة المحيطة بقطعة المعدن مباشرة ، وتسمى هذه المنطقة ، بمنطقة التأثير الديناميكى للمعدن Oligodynamic zone ، ويلى هذه المنطقة الخالية من النمو ، منطقة أخرى تنمو فيها البكتريا الملقحة بغزارة ، وتسمى بمنطقة التأثير المنبه للمعدن Stimulating zone ، بينما يظهر فى الأجزاء الباقية من الطبق ، نموا عاديا من البكتريا .

من هذه التجربة ، نلاحظ أن بعض المواد ، كالمعادن الثقيلة ، تكون سامة للميكروب إذا وجدت بتركيزات مخففة ، بسبب التأثير الديناميكى ، ولكنها تكن منشطة للنمو ، فى التركيزات المخففة جدا ، وينطبق ذلك أيضا على بعض المضادات الميكروبية .

الرج : Shaking

يتسبب الرج العنيف فى قتل الكائنات الدقيقة ، خاصة إذا ماحدث الرج فى وجود مواد خادشة Abrasive بالبيئة ، مثل كريات الزجاج Glass beads ، والرمل ، والكاربوراندوم Carborundum . ويعود القتل ، إلى تمزق وتحطم الخلايا ، الذى يحدث كنتيجة للرج .

---

[*] الكلمة مشتقة من أصل يونانى ، Oligo بمعنى صغير ، أما Dynamic فإنها تعنى قوة أو نشاط .

تحطيم الخلايا : Cell disintergation

فى الدراسات الميكروبيولوجية ، يلجأ الباحث إلى تحطيم الخلايا الميكروبية ، وفصل جدر الخلايا ، والحصول على مكونات الخلية الداخلية ، والإنزيمات الخلوية ، وذلك لدراسة هذه المكونات .

ويتم تحطيم الخلايا بطرق طبيعية ، لاتؤثر على طبيعة المكونات ، باستخدام أكثر من طريقة ، منها

١- تجفيف الخلايا الميكروبية ، بواسطة الأسيتون أو بالتجميد ، والطحن مع الألومينا (أكسيد الألومنيوم) .

٢- الرج بقوة فى أجهزة مناسبة ، مثل جهاز Mickle disintegrator ، مع استخدام الكريات الزجاجية .

٣ -التعريض لتغيرات فجائية فى الضغط فى حدود ٥٠٠ ضغط جوى (حوالى ٧٥٠٠ رطل/بوصة٢) .

٤- استخدام الموجات الصوتية (١٠ كيلو سيكل/ثانية ، لعدة دقائق) ، أو عالية التردد (من ٣٠ الى ١٠٠ كيلو سيكل/ثانية ، لفترات أقل) .

٥- التعريض لصدمات أسموزية Osmotic shocks ، بوضع الخلايا فى محاليل ذات ضغط أسموزى منخفض ، فتنفجر الخلايا فى الحال .

الموجات الصوتية : Sonic waves

تقسم الموجات الصوتية إلى

١- موجات صوتية Sonic, Sound ، مسموعة لأذن الإنسان Audible sound ، ذبذبتها أقل من ٢٠ ألف سيكل/ثانية Cycle second ، (تسمى الوحدة هرتز Hertz, Hz) .

٢- موجات فوق صوتية Supersonic ، وتتراوح ذبذبتها مابين ٢٠ الى ١٠٠ ألف سيكل/ ثانية وهى موجات غير مسموعة للإنسان ، ولكن تسمعها بعض الحيوانات كالخفاش .

٣-موجات صوتية فائقة التردد (عالية التردد جدا) Ultrasonic ، وهى التى تزيد ذبذبتها عن ١٠٠ ألف سيكل/ثانية ، وتصل لعدة ملايين .

الموجات الصوتية ذات الذبذبات العادية ، ليس لها تأثير على الميكروبات ، ولكن الموجات فوق الصوتية ، والموجات ذات الذبذبات العالية (أكثر من ١٠٠ ألف إلى ١,٥ مليون سيكل/ثانية) ، لها تأثير ضار على الميكروبات ، عدا الفيروسات خاصة الصغيرة الحجم فإنها شديدة المقاومة . ويعود التأثير الضار إلى حدوث تأثير ميكانيكى على الخلية الميكروبية ، ورج شديد لمحتوياتها ، مما يؤدى الى حدوث إضطرابات بالخلية ، وتمزق لجدرها .

عموماً ، فإن استخدام الموجات الصوتية فى التعقيم ، أو حفظ الأغذية ، مازال محدوداً ، غير أن استعمال الموجات الصوتية شائع ، فى الحصول على مستخلص الخلايا ومابها من إنزيمات ، لغرض القيام بالدراسات الكيميائية والفسيولوجية المختلفة ، حيث أنه باستخدام الموجات الصوتية ، يمكن الحصول على مستخلص الخلايا والإنزيمات ، دون تغير فى صفاتها الطبيعية . وبالإضافة إلى ذلك ، فإن استخدام الموجات الصوتية عالية التردد ، أصبح شائعاً فى أغراض أخرى ، كما يحدث لمعرفة أعماق البحار ، أو مابها من مخلفات ، بطريقة صدى الصوت Echo-sounding ، وفى بعض الأعمال الطبية للكشف عن الأورام ، ومعرفة نوع الجنين .

الضوء والإشعاع : Light and radiation

يعد الضوء ، بوجه عام ، من العوامل الضارة بالكائنات الدقيقة التى تخلو من الصبغات الممثلة للضوء . ففى البكتريا مثلاً ، فإن مجموعة قليلة منها مثل ، السيانوبكتريا (البكتريا الخضراء المزرقة) ، وبكتريا الكبريت الخضراء والأرجوانية ، تتطلب وجود الضوء المرئى ، لكى تنمو وتتكاثر . وتتميز هذه المجموعة من البكتريا ، باحتوائها على مواد ملونة تشبه الكلوروفيل النباتى ، تيسر لها امتصاص الضوء ، وتحويل الطاقة الضوئية إلى طاقة كيميائية ، وبذلك تستغل الطاقة الإشعاعية فى عملية البناء الضوئى .

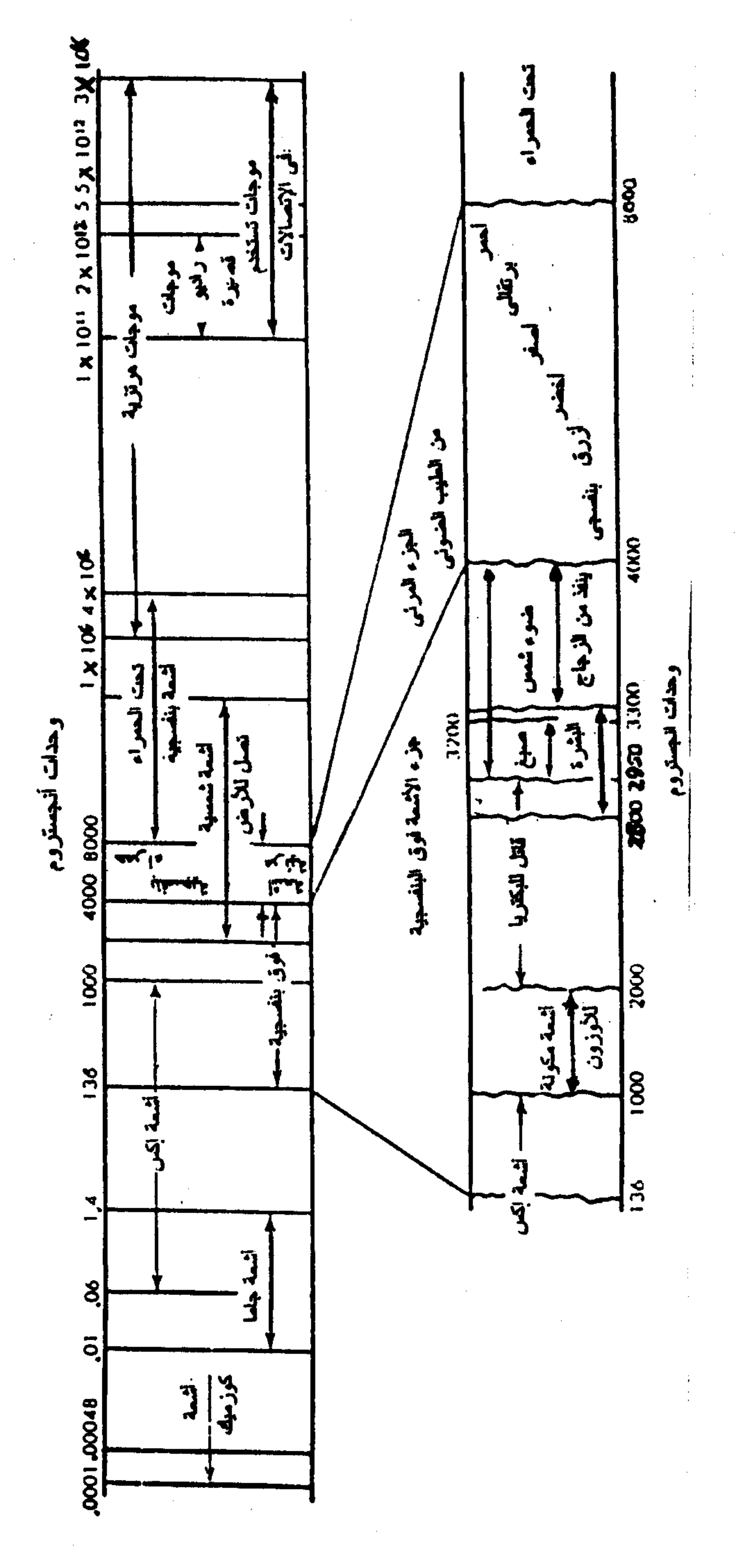
لكن أغلب أنواع الميكروبات ، لاتحتوى على تلك المواد الملونة الممثلة للضوء ، وبالتالى ، فإنه ليس لها القدرة على استخدام الضوء كمصدر للطاقة ، ولذلك ، فإن الأشعة ، المرئية وغير المرئية ، تعتبر عديمة الفائدة لها ، أو تكون ذات تأثير ضار عليها .

الطيف الكهرومغناطيسى : Electromagnetic spectrum

يوضح الشكل [٤ (٢) – ٦] مجال الطيف الكهرومغناطيسى . ويعبر عن وحدة القياس المستخدمة فى طول موجة الأشعة ، بالنانومتر nm (١ × ١٠$^{-٩}$ من المتر) ، أو بالانجستروم أ° ، A° (١ × ١٠$^{-١}$ من النانومتر) .

يتناسب نفاذ الأشعة داخل الخلية ، عكسيا مع طول الموجه ، فكلما قصر طول الموجه كلما كانت الأشعة أكثر نفاذية ، وأشد قتلا . وعلى ذلك ، فإننا نجد أن الأشعة المؤينه Ionizing radiations ، (مثل أشعة إكس ، وجاما ، وكوزميك ، وطول موجاتها أقل من ١٠٠٠ أ°) ، ذات طول موجى قصير جدا ، ولذا فذبذباتها عالية ، والطاقة المنبعثة منها كبيرة جداً ، لدرجة أن الجزيئات التى تتعرض لها تتأين ، ولذا سميت بالأشعة المؤينة .

والأشعة التى طول موجاتها من ٢٠٠٠ الى ٤٠٠٠ أ° ، ومنها الأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet UV ، ذات طول موجى قصير ، ولكنها أطول من المجموعة المؤينة السابقة ، وطاقتها أقل ، فالطاقة المنبعثة منها تكفى لإحداث تفاعل كيميائى ، دون إحداث تأين ، ولذلك فهى أشعة غير مؤينة .



شكل ٤ (٢) - ٦ : لوحة تبين الطيف الضوئى

From : Frobisher, 1974

أما الأشعة المرئية (من البنفسجي الى الأحمر) ، فهى تقع فى المنطقة ذات الطول الموجى من ٤٠٠٠ الى ٨٠٠٠ أ° ، يلى ذلك ، الأشعة تحت الحمراء Infrared-IR ، التى طولها الموجى أكبر من ٨٠٠٠ أ° ، وهى أشعة ذات موجات طويلة ، وذبذباتها منخفضة ، ولذا فطاقتها قليلة ، غير قادرة على إحداث تفاعل كيميائى . وهى تنعكس من الأسطح الملساء ، ولكنها عندما تمتص بواسطة المواد غير العاكسة Non-reflecting materials ، فإن طاقتها البسيطة ، تتحول سريعا الى حرارة ، Heating rays ، وهذا يفسر استخدام الأشعة تحت الحمراء (من ١٠ الى ١٢ ألف أ°) كمصدر للحرارة ، واستعمالها أحيانا فى الطبخ السريع .

يلى الأشعة تحت الحمراء ، أشعة هرتز Hertz waves ، وموجاتها أطول من الأشعة السابقة ، وتستخدم فى الرادار والتليفزيون والراديو ، والإتصالات اللاسلكية .

تعتبر الأشعة فوق البنفسجية ، وأشعة إكس ، وأشعة جاما ، من بين أنواع الأشعة المختلفة ، التى تستخدم أحيانا فى أغراض التعقيم الكلى أو الجزئى ، وأكثرها استخداما خاصة فى المعامل للدراسات الفسيولوجية وفى المستشفيات هى الأشعة فوق البنفسجية عند الطول الموجى ٢٦٥٠ أ°، وقد بدأ تزايد استعمال أشعة جاما فى عمليات حفظ الأغذية .

ضوء الشمس : Sun light

تبث الشمس جميع موجات الطيف الكهرومغناطيسى من الضوء والأشعة ، غير أن أغلبها بما فى ذلك الأشعة المؤينة ، تمتص أو تحجز فى طبقات الجو العليا المحتوية على الأوزون ، وكذلك فى الضباب الأرضى والسحب والدخان والزجاج ، ولايصل إلينا من الأشعة إلا حوالى ١/١٠٠٠ من المليون من أشعة الشمس ، ومايصلنا يقع فى منطقة الأشعة فوق البنفسجية ، والضوء المرئى ، والأشعة تحت الحمراء . وماتحويه هذه الأشعة التى تصل إلينا ، من أشعة مهلكة للميكروبات ، ذو تركيز منخفض ، يقل عادة عن واحد فى الألف من كمية ضوء الشمس .

يرجع التأثير القاتل لضوء الشمس على الميكروبات ، إلى مايحتويه من الأشعة فوق البنفسجية ، ذات الطول الموجى الأقل من ٣٥٠٠ أ° ، وأكثر أجزاء الخلية الميكروبية تأثرا بالأشعة فوق البنفسجية ، هى الأحماض النووية ، وذلك لقدرتها العالية على إمتصاص هذه الأشعة ، خاصة ذات الطول الموجى ٢٦٥٠ أ° ، وبالتالى تتلف الخلية وتموت .

الاستفادة العملية من الأشعة فوق البنفسجية

الأشعة فوق البنفسجية ، أشعة غير مؤينة ، ويتراوح طولها الموجى من ١٣٦ إلى ٤٠٠٠ أ° ، وأشدها قتلا هو الطول الموجى ٢٦٥٠ أ° ، حيث أنه عند هذا الطول الموجى ، يحدث أقصى امتصاص لهذه الأشعة بواسطة حامض الدنا النووى الموجود بالخلية ، وبالتالى تتلف الخلية وتموت .

وقدرة الأشعة فوق البنفسجية على إختراق المواد قليل ، ولذلك ، فإن تأثيرها المهلك ، يصل لأقصاه على سطوح المواد المشععة ، وفى الأغشية الرقيقة .

وأصبح من السهل الآن ، الحصول على الأشعة فوق البنفسجية ذات الطول الموجي ٢٦٠٠ الى ٢٧٠٠ أ° ، وهو المدى الموجي الأكثر تأثيرا ، من المصادر الصناعية ، وبذلك أمكن استعمالها في عدة أغراض عملية .

تنتج هذه الأشعة باستخدام لمبات خاصة ، مثل لمبات بخار الزئبق المصنوعة من الكوارتز ، Quartz mercury vapor lamps ، وتصنع هذه اللمبات من الكوارتز ، بدلا من الزجاج الذى يمنع مرور الأشعة فوق البنفسجية ، ويحتوى الكوارتز على قليل من الزئبق ، الذى عندما يتبخر بفعل التيار الكهربائى ، ينتج وهجا غنيا بالأشعة فوق البنفسجية ، كما يستخدم القوس الكربونى Carbon arc ، المستعمل فى إضاءة استوديوهات السينما والتليفزيون ، وهو يُنتج عند إضاءته ، تركيزات مرتفعة من الأشعة فوق البنفسجية .

ويستفاد عمليا من تأثير الأشعة فوق البنفسجية القاتل للميكروبات ، فى تعقيم هواء بعض الأماكن مما بها من ميكروبات سابحة ، كحجرات التلقيح بالميكروبات فى المعامل والمصانع ، والمستشفيات ، وعنابر تحضير وتعبئة الأدوية ، وفى تعقيم سطوح الأدوات الجراحية ، وأدوات ومصانع الألبان كالزجاجات والصفائح والأوعية ، وفى قتل الميكروبات السطحية التى تُفسد المخللات ، وفى التعقيم الجزئى لبعض الأغذية كاللحوم والفطائر .

الأشعة فوق البنفسجية ، تساعد الجسم على إنتاج فيتامين د ، والجلد البشرى حساس لتلك الأشعة ، والتعرض البسيط لها يكسب الجلد لونا أسمرا ، غير أن الإفراط فى التعرض لها ضار ، إذ تقتل خلايا البشرة البيضاء ، وتسبب حروقا بالجلد تسمى حرقة شمس Sun burn ، كما أن لها تأثير مطفر ومسرطن على الخلايا . لذلك يجب الحذر عند استخدام هذه الأشعة ، عند محاولة قتل الميكروبات الموجودة فوق سطح الجلد ، أو تحته مباشرة ، حتى نتجنب ما قد ينشأ عن ذلك من حروق وأضرار .

مقاومة الميكروبات

تعتبر جراثيم البكتريا والفطر ، أكثر مقاومة لتأثير الأشعة فوق البنفسجية من الخلايا الخضرية ، فقد لوحظ أنه يلزم لقتل الجراثيم ، ضعف كمية الأشعة على الأقل التى تلزم لقتل الخلايا الخضرية . وأيضا ، فإن البكتريا الموجبة لصبغة لجرام ، أكثر مقاومة لتأثير التشعيع من البكتريا السالبة ، كما أن البكتريا المسنة أكثر مقاومة لتأثير التشعيع من البكتريا الحديثة العمر ، كما تتميز بعض الفيروسات ، بشدة مقاومتها للأشعة فوق البنفسجية وأشعة إكس وأشعة جاما ، عن الجراثيم البكتيرية .

تأثير الأنواع الأخرى من الأشعة

أشعة إكس : X-rays

يتراوح الطول الموجى لأشعة إكس ، وقد تسمى أشعة رونتجن Roentgen ، مابين ٠,٠٦ إلى ١٠٠٠ أ° . وتمتاز أشعة إكس ، عكس الأشعة ذات الموجات الأطول ، بقدرتها العالية على إختراق المواد . وتسبب هذه الأشعة تغيرا فى طبيعة البروتين . وكسر

الروابط الإيدروجينية بالأحماض النووية ، وهى قاتلة للميكروبات والخلايا الأكثر رقيا [جدول ٤(٢)- ٥] ، واستعمالها فى التعقيم مكلف ومحفوف بالمخاطر ، ولكنها تستعمل بكثرة فى الدراسات المعملية ، لانتاج طفرات ميكروبية .

جدول ٤ (٢)-٥ : *متوسط الجرعة القاتلة من أشعة إكس لبعض الكائنات .

الكائن		متوسط الجرعة القاتلة راد (*)
فيروس	فيروس موزاييك الدخان	٢٠٠ ٠٠٠
بكتريا	*E. coli*	٥٠٠٠
	B. mesentericus	١٣٠ ٠٠٠
طحلب أخضر	*Pandorina*	٤٠٠٠
بروتوزوا	*Paramecium*	٣٠٠ ٠٠٠
فقاريات	فأر أبيض	٦٠٠
	قرد	٤٥٠
	انسان	٤٠٠

*** From: Pelczar and Chan, 1981.**

أشعة جاما : Gamma rays

أشعة جاما أقصر من أشعة إكس ، فهى ذات طول موجى يتراوح مابين ٠,٠١ إلى ١,٤أ° ، وبالتالى فهى أشد قتلا من أشعة إكس ، وأكثر إختراقا للخلايا ، وتأثيرها قاتل لكل الخلايا الحية، بما فى ذلك الميكروبات . وتنتج أشعة جاما من مصدر مختلف عن مصدر أشعة إكس ، فبينما تنتج أشعة إكس من التفريغ الكهربائى ، فإن أشعة جاما تنتج طبيعيا من إنحلال المواد الإشعاعية مثل الراديوم والكوبالت ٦٠ والنظائر المشعة ، أو صناعياً من المفاعلات الذرية . وهى طاقة زائدة تخرج من الذرة ، فى صورة موجات الكترومغناطيسية قصيرة جدا .

(*) الراد **Rad** ، جرعة الأشعة الممتصة ، وهى كمية الإشعاع التى تكافىء إمتصاص ١٠٠ وحدة طاقة ، أى ١٠٠ ارج Erg لكل جرام من المادة المشععة ، وهى تساوى ٦ × ١٠^١٣ الكترون فولت eV .

ونظرا لتأثير أشعة جاما ، الأشد قتلا للميكروبات والأكثر إختراقا للمواد ، من أشـــــعة إكس ، فإن استعمال أشعة جاما فى التشعيع أخذ يتزايد ، لتعقيم المواد السميكة ، أو ذات الأحجام الكبيرة ، كما فى الأغذية بعد تغليفها ، والمعدات الطبية ، ويتم التعقيـم علـى درجـة حـرارة الغرفة .

أشعة ألفا وبيتا ، وأشعة الكاثود

أشعة ألفا وبيتا α and β rays ، عبارة عن جسيمات مادية ، مشحونة كهربائيا ، تخرج من نواة الذرة ، وهى أشعة مؤينة ، وأقصر من أشعة جاما .

ويمكن استعمال الاشعاعات الالكترونية Electron beam radiation المسـماه بأشـعة الكاثود Cathode rays فى أغراض التعقيم ، لما لها من فعل مبيد للميكروبات عندما تكون فـى كثافة عالية (أكثر من مليون فولت) ، وتنتج هذه الأشـعة باسـتخدام أجـهزة مناسـبة تسـمى المعجلات Accelerators ، ويمكن أن تستخدم فـى تعقيـم الأدوات الجراحيـة ، والأدويـة ، والعبوات المغلفه بدون رفع درجة الحرارة ، وبدون حفظ للمواد المعاملة فى الثلاجة .

ولكن يعاب على استعمال هذه الاشعاعات ، أنها مكلفة ، وقد تحـدث تغـيرات غـير مرغوب فيها بالأغذية المعاملة ، من حيث الطعم والرائحة والقوام وتلف لبعض الفيتامينات .

تأثير الأشعة على الميكروبات

عندما يستخدم الإشعاع فى تعقيم مادة ما ، فإن ذلك يتم بدون رفع درجـة الحـرارة ، ولذا ، فإن التعقيم فى هذه الحالة ، يعرف بالتعقيم البارد Cold sterilization .

والأشعة المهلكة للميكروبات ، هى التى تنفذ بالخلايا الميكروبية ، وينتج عنها طاقـة ، ويحدث التأثير الضار للأشعة على الميكروبات بطريق مباشر أو غير مباشر . فعندمـا تمتـص الأشعة بواسطة الخلايا الميكروبية ، تسبب طاقة الأشعة الممتصة ، تغييرا فى التركيب الجزيئـى لمكونات الخلية ، خاصة فى المناطق الحساسة منها ، كالإنزيمات والأحماض النووية ، ويسـمى هذا بالتأثير المباشر Direct-hit . أو قد تُحدث الطاقة الأشعاعية الممتصة ، تفاعلات كيميائيـة ضوئية Photochemical ، تؤدى إلى أكسدة جزيئات السيتوبلازم والأجسام النوويـة بالخليـة ، ويعرف هذا بالتأثير غير المباشر على الخلية .

ونتيجة للتأثير الضار للأشعة على الميكروبات ، تموت الخلايا طبقا لنظام لوغـاريتمى، أو قد يحدث بها طفرات ، نتيجة تغيير حدث فى التركيب الوراثى للخلايا الناجية من الموت .

ويمكن التقليل من التأثير الضار للأشعة فوق البنفسجية على الميكروبـات ، بإضافـة بعض المواد الغنية فى مجموعة السلفاهيدريل (SH-) مثـل مركـب الجلوتـاثيون ، أو إزالـة الأكسجين من الجو المحيط بالخلايا ، أو بإضافة بعض المواد العضوية للبيئة القادرة على إزالـة الأكسجين من الوسط ، مثل حامض البيروفيك والإندواستيك ، وذلك لمقاومة عملية التثبيط التـى تحدث بالخلايا ، نتيجة لأكسدة الإنزيمات وبعض المكونات الأخرى بالخلية .

التنشيــط الضوئى : Photoreactivation

يبدو فى بعض الحالات ، أن موت الخلايا نتيجة للتعرض للإشعاع ، ليس موتا نهائيا . فكثير من البكتريا والخمائر ، التى تعرض للأشعة فوق البنفســجية (٢٠٠٠ الــى ٣٠٠٠ أ°) ، يمكنها أن تستعيد حيويتها ، إذا عرضت لأشعة ذات موجات أطول ، كموجات الضوء المرئــى (٤٢٠٠ - ٥٤٠٠ أ°) ، وذلك فى خلال ٣٠ دقيقة (على الأكثر) ، من التعرض للأشــعة فــوق البنفسجية . ويعنى ذلك ، فى هذه الحالة ، أن عدد الخلايا الناجية من التعــرض للأشــعة فــوق البنفسجية ثم الضوء المرئى ، يزداد عن العدد الناتج من معاملات المقارنة التى عرضــت فيــها الخلايا للأشعة فوق البنفسجية فقط . وتعرف هذه الظاهرة ، التى يتم فيها إعادة تنشيط الخلايــا بتعريضها للضوء ، باسم التنشيط الضوئى . ويعود السبب فى عملية التنشيط ، إلى أن تعــرض الخلايا الميكروبية للضوء المرئى ، يسبب تنشيطا لبعض إنزيمات الخلية التى تقــوم بــالدمج أو الكسر ، يؤدى إلى معادلة التأثير الضار للمواد التى تكونت ، وكذلك المواد المؤكســدة الســامة التى نتجت ، عند التعرض للأشعة فوق البنفسجية .

ظاهرة التنشيط الضوئى ، تنجح فقط فى حالة الخلايا التى تعرضــت للأشــعة فــوق البنفسجية ، ولاتنجح فى حالة الخلايا التى عوملت بالأشعة السينية والأشعة الأخرى المؤينــة . وهذا يدل على الإختلاف فى الطريقة التى تؤثر بها كل من الأشعة فــوق البنفســجية والأشــعة المؤينة ، على الخلايا .

وتبين ظاهرة التنشيط الضوئى ، أن هناك تدرجا فى العمليات الحيوية ، التــى تحــدث بين الحياه والموت ، طالما كان التأثير الذى يحدث عكسيا . أما إذا كان التــأثير الــذى يحدثــه الإشعاع غير عكسى ، فإن الموت يكون محققا ، ودائما .

الكهربـــاء : Electricity

إمرار تيار كهربائى ، مستمر أو متردد ، فى معلق يحتوى على كائنات دقيقة ، ليس له تأثير مباشر عليها . وإذا حدث تأثير قاتل ، فإن هذا يعود الى إرتفــاع الحــرارة الــذى يتولــد بالمحلول ، نتيجة مرور التيار الكهربائى ، كما يعود التأثير أيضا ، إلى ماتسببه الكــهرباء مــن تحليل إلكتروليتى للأملاح الموجودة بالمحلول ، فيحدث تأين للمواد ، قد ينتج عنها أيونــات ذات تأثير قاتل على الميكروبات ، مثل تأين $NaCl$ إلى Na^+ , Cl^- .

وقد جُرب استعمال الكهرباء للتخلص من الميكروبات ، كما فى معاملة ميــاه الشــرب ومياه المجارى ، وبسترة اللبن وعصير الفواكه ، وذلك بإمرار تيار كهربائى متردد ، تبلغ شــدته ١١٠ أو ٢٢٠ فولت ، وتردد ٦٠ سيكل ، خلال تلك السوائل أثناء تدفقــها بيــن قطبيــن مــن الكربون . ولكن عمليا ، فإن استعمال الكهرباء بغرض التعقيم ، مازال محدودا .

الانتقال (التفريد) الكهربائى : Electrophoresis

تحمل الميكروبات على سطحها شحنات كهربائية ، تنتج كمحصلة للمواد الأمفوتيريــة الداخلة فى تركيب سطح الخلايا . وفى المحاليل المتعادلة ، فإن الميكروبات السابحة بالمحلول ،

تكون شحنه سطوحها سالبة ، ولها نقطة تعادل كـــهربى Isoelectric point ، يـــتراوح رقمـــها الايدروجينى بين ٣ الى ٤ .

ويمكن إثبات وجود تلك الشحنة الكهربائية السالبة ، بإمرار تيار كهربائى ، فى محلـــول متعادل من معلق بكتيرى ، فيلاحظ هجرة Migration البكتريا الى القطب الموجـــب ، الأنـــود Anode . وتسمى هذه الحركة ، للجزيئات الدقيقة كالبروتينـــات والميكروبـــات فـــى المجـــال الكهربائى ، بالإنتقال أو التفريد الكهربائى ، وهى عملية كهروكيميائية .

يستفاد عمليا من طريقة الانتقال الكهربائى ومن طريقة التحليل الكروماتوجرافى ، فـــى فصل المكونات الدقيقة لمحتويات الخلية الميكروبية ، كما تستعمل طريقة الانتقال الكهربائى فـــى دراسة الفيروسات ، وفى فصل البروتينات المختلفة من السيروم ، والتعرف عليها . مع ملاحظة أن طريقة الانتقال الكهربائى تعتمد على الاختلاف فى سرعة تحرك الخلايا أو مكوناتها ، عنـــد وضعها فى مجال كهربائى ، بسبب الإختلاف فى مقدار ماتحمله من شحنات كهربائيـــة ، بينمـــا تعتمد طريقة التحليل الكروماتوجرافى ، على الاختلاف فى سرعة تحرك مكونات المادة ، عندما تتحرك على ورق خاص (وليس مجال كهربائى) ، بسبب الأختلاف فى درجة الأدمصاص .

(الباب الرابع – الفصل الثالث)

تأثير المواد الكيميائية

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة

(الباب الرابع - الفصل الثالث)

تأثير المواد الكيميائية Effect of Chemicals

المواد الكيميائية التى تؤثر على نمو ونشاط الميكروبات متعددة . وهى تـتراوح مـن أيونات المعادن ... إلى المواد العضوية المعقدة . وبعض المواد الكيميائية غير متخصصة فـى تأثيرها السام على الميكروبات ، بمعنى أنها تؤثر على أكثر من موقع حيوى ، أو أكثر من إنزيم بالخلية . وأمثال هذه المواد ، قد تتحد أيضاً مع بروتينات خلايا العائل ، وتسبب لـه الضـرر ، لذلك لايمكن استعمالها داخل الجسم الحى لعلاج الأمراض الميكروبية . إلا أنه يمكن اسـتعمال بعضها خارجياً على سطح العائل ، مثل تلك المذكورة فى الجزء الأول من هذا الفصل ، بشـرط أن لاتصل الى أنسجة العائل الداخلية . وهناك بعضاً من المواد الكيميائية ، التى تستعمل داخلياً فى علاج الأمراض ، وتسمى مواد علاجيـة كيميائيـة Chemotherapeutic agents ، مثـل مركبات السلفا والمضادات الحيوية وهذه ستناقش فى النصف الثانى من هذا الفصل .

وننصح عند قراءة هذا الفصل ، بالرجوع إلى الفصـل الأول مـن البـاب الرابـع ، الخاص بأسس التحكم فى الميكروبات ، والظروف المؤثرة على عمل وكفاءة العوامل المضـادة للميكروبات .

الكيميائيات غير العضوية

بعض المواد غير العضوية ، لها تأثير ضار على الميكروبات ، بسبب التـأثير السـام الناتج من تأينها ، أو لأنها عوامل مؤكسدة ، أو لأنها تؤثر على بعض مكونات الخلية الحيوية .

من هذه المواد

١- الأحماض : Acids

يرجع التأثير القاتل للأحماض المعدنية ، الى أيون H^+ ، الذى ينفرد عند تأين هـذه الأحماض فى المحاليل المائية . ولذلك فإن قوة هذه الأحماض القاتلة ، يتناسب تناسباً طردياً مـع درجة تركيز ايون الأيدروجين بالمحلول ، فكمية قليلة من هذا التركيز تعتبر مطـهرة ، بينمـا الكميات الكبيرة من هذا التركيز تعتبر قاتلة .

الأحماض المعدنية أشد قتلا للميكروبات ، من الأحماض العضوية ، كمـا أنـه عنـد مقارنة كميات متساوية من كل من OH^-, H^+ ، فسنجد أن لأيون H^+ حدة سمية أكبر .

وعلى الرغم من أن للأحماض المعدنية ، مثل HCl ، H_2SO_4 ، HNO_3 ، قوة قتـل عالية جدا ، إلا أن استعمالها فى قتل الميكروبات محدود ، وذلك بسبب تأثيرها الضـار علـى الجلد والأنسجة الحية ، وعلى المنسوجات والأدوات والمعادن والمواد المختلفة .
وقد ذكر بالفصل الثانى من هذا الباب ، تأثير حموضة البيئة والرقم الإيدروجينى ، علـى نمـو ونشاط الميكروبات ، وكما ذكر سابقا ، فإن زيادة الحموضة أو القلوية بالوسط ، يزيد من كفاءة

العوامل الأخرى المستعملة فى قتل الميكروبات (أنظر ص ١١٠) ، كما يحدث عند استعمال الحرارة ، لقتل الميكروبات الموجودة بوسط عالى الحموضة .

٢- القلويات : Alkalies

يرجع التأثير الضار للقلويات على الميكروبات ، إلى أيون OH^- ، الذى ينفرد عند تأين القلويات فى المحاليل المائية ، حيث يصبح المحلول قلوياً ، غير مناسب لنمو الميكروب . وتؤدى المحاليل شديدة القلوية ، إلى إذابة الخلية الميكروبية ، وقتلها .

وكلما كان القلوى أكثر تأينا ، كلما كان أشد تأثيرا على الميكروبات ، فمثلاً KOH أكثر تأثيرا من NH_4OH ، حيث أن الأول يتأين بدرجة أكبر من الثانى . ويشذ عن ذلك $Ba(OH)_2$ ، فبالرغم من أنه أقل تأينا من KOH ، إلا أنه أكثر إهلاكاً للميكروبات ، ويعود ذلك إلى التأثير الإضافى المهلك لأيون الباريوم Ba^{++} ، فالتأثير فى حالة إيدروكسيد الباريوم ، لا يعود فقط إلى أيون OH^- ، بل يرجع أيضاً إلى تأثير أيون الفلز .

وكما ذكر سابقا ، فإن زيادة القلوية بالوسط ، تزيد من كفاءة العوامل الأخرى المستعملة فى قتل الميكروبات . كما أن أيون H^+ ، أكثر سمية للميكروبات من أيون OH^- ، وذلك عند تساوى كميات كل منهما .

يستعمل NaOH كثيرا كمادة منظفة فى مصانع الألبان ، لتطهير الأجزاء المطاطية بآلة الحليب الميكانيكية ، والتركيز المستعمل هو ٠,٣ - ٠,٥ % ، ويسمى المحلول الناتج فى هذه الحالة ، باسم Lye . كما يستعمل NaOH بنسبة ٥% فى تطهير الاسطبلات والمخازن .

وهناك بعض المواد الأخرى ، مثل الجير الحى (CaO) ، وفوسفات ثلاثى الصوديوم، وميتا سليكات الصوديوم ، التى تعطى محاليلا عالية القلوية ، عند إذابتها فى الماء ، وتستعمل فى تنظيف أدوات مصانع الألبان .

٣- الأملاح والمعادن الثقيلة ومركباتها العضوية

تحتاج بعض الكائنات الدقيقة فى نموها ، إلى كميات ضئيلة جداً من بعض المعادن الثقيلة . لذلك ، فإن وجود هذه المعادن فى المحلول المائى للمزارع الميكروبية ، بكميات ضئيلة جداً ، يكون له تأثير منشط . وإذا زاد تركيز هذه المعادن عن ذلك ، كان لها تأثير مطهر ، وإذا زاد التركيز عن ذلك كان لها تأثير قاتل .

ويعود التأثير القاتل لأيونات المعادن الثقيلة ، إلى تفاعلها مع البروتين الخلوى والإنزيمى ، وترسيبها ، أو إتلافها له . وفى حالة التركيزات المخففة للمعادن ، فإن التأثير الضار ، يعود إلى التأثير الديناميكى للمعادن .

ويمكن معادلة التأثير السام للكاتيونات على الميكروبات ، بإضافة كاتيونات أو أملاح معادن أخرى مناسبة ، ذات تأثير تثبيطى مضاد ، وتعرف هذه الظاهرة باسم التأثير المضاد للأملاح Antagonistic effect of salts ، ويستفاد من هذه الظاهرة ، فى انتاج محاليل فسيولوجية متزنة ، مثل محلول رنجر Ringer's solution .

وعموما ، فإنه بالنسبة لتأثير المعادن الثقيلة ، فإننا نلاحظ أن

- معظم المعادن الثقيلة ومركباتها ، لها تأثير سام على الكائنات الدقيقة ، وأكثر هذه المعادن تأثيرا هو الزئبق يليه الفضه ، ثم النحاس .
- كلما زاد تركيز المعدن بالوسط ، كلما كان تأثيره السام أكبر .
- التأثير السام لكاتيونات المعادن الثقيلة ، أكبر من تأثير كاتيونات المعادن الخفيفة . فالتأثير السام لكلوريد الزئبقيك $HgCl_2$ ، أكبر من تأثير كلوريد المغنسيوم $MgCl_2$.
- الكاتيونات ثنائية التكافؤ مثل المغنسيوم أكبر تأثيرا من الكاتيونات أحادية التكافؤ ، مثل الصوديوم والبوتاسيوم .
- يقل التأثير السام للمعادن ، عند وجود بروتينات فى المحلول ، لأنه غالبا ماتتحد المعادن مع تلك البروتينات ، فيقل تأثيرها على الميكروبات .
- البكتريا الموجبة لصبغة جرام أكثر حساسية لأيونات المعادن ، من البكتريا السالبة لصبغة جرام .

٤- بعض مركبات المعادن المستعملة كمطهرات

هناك بعضا من مركبات المعادن الثقيلة ، التى يمكن استعمالها كمطهرات أو معقمات .

ومن أمثلة هذه المركبات

٤-١- مركبات الزئبق

من مركبات الزئبق غير العضوية ، التى تستعمل بكثرة فى التعقيم ، كلوريد الزئبقيك $HgCl_2$ ، وأكسيد الزئبق الأصفر HgO ، والأخير يضاف للمراهم كمادة مطهرة .

يستعمل كثيرا محلول كلوريد الزئبقيك بنسبة ١ فى الألف (ويعرف بأسم السليمانى) ، فى تعقيم العقد الجذرية ، حتى لاتتلوث الرايزوبيا الجارى فحصها مما حولها ، وفى تعقيم الأوانى المستخدمة فى تجارب المخمرات . ويجب بعد التعقيم بالسليمانى ، الغسيل جيدا بالماء ، حتى لايميت الزئبق الكائنات الأخرى المطلوب دراستها .

استعمال الزئبق ، أو أملاحه المعدنية ، فى إبادة الميكروبات ، محدود جدا ، وذلك بسبب السمية الشديدة التى يتميز بها الزئبق ، وإتلافه للمعادن ، وقد أمكن التغلب على ذلك ، بإنتاج مركبات عضوية معدنية Metal-organocompounds ، مشتقة من الزئبق ، تمتاز بسميتها الضعيفة ، وبتأينها البطىء ، مع إحتفاظها بقدرتها فى التطهير والإبادة . ومن أمثلة هذه المواد المركروكروم

Mercurochrome (sodium salt of dibromohydroxy mercuri fluorescein)

وهو يستعمل كمطهر للجروح والجلد بنسبة ٢% ، وهو يعتبر أفضل مركبات الزئبق العضوية ، وإن كان أقل تأثيرا من اليود .

٤-٢- مركبات الفضة

تستعمل أملاح الفضة بكثرة فى التطهير ، ومن أمثلة المركبات المستعملة ، نترات الفضة $AgNO_3$ بتركيز ١% كقطرة للعين .

يعاب على مركبات الفضة المعدنية ، غلو ثمنها ، وتأثيرها المهيج للأنسجة . وقد أمكن إشتقاق مركبات عضوية للفضة ، تمتاز بأن تأثيرها المهيج ضعيف ، مع إحتفاظها بقدرتها فى التطهير ولذلك ، تستعمل بكثرة كمطهرات . ومن أمثلة مركبات الفضة العضوية المستعملة ، الأرجيرول Argyrol ، والبروتارجول Protargol ، وهذه المواد عبارة عن بروتينات فضة .

٤-٣- مركبات النحاس

تستعمل كبريتات النحاس بكثرة ، لقتل الميكروبات ، خاصة الطحالب والميكروبات المحتوية على الكلوروفيل (اليخضور) . وهى تضاف بنسبة ١ جزء فى المليون ، إلى مياه الشرب والخزانات والبحيرات ، للتخلص مما بها من طحالب . ويراعى عند مقاومة الطحالب فى البحيرات التى بها أحياء بحرية ، استعمال كميات قليلة من كبريتات النحاس ، حتى لاتموت تلك الأحياء .

من مركبات النحاس المستعملة فى مقاومة أمراض النبات الفطرية ، مخلوط بوردو Bordeaux mixture ، وهو خليط من كبريتات النحاس والجير .

٤-٤- مركبات الزنك

تستعمل أملاح الزنك ، مثل أكسيد الزنك ZnO ، كمطهر ، فى تحضير المراهم وقطرات العيون .

٤-٥- مركبات الزرنيخ

تستعمل مركبات الزرنيخ ، لعلاج الأمراض التى تسببها السبيروكيتا ، والتريبانوسوما، والبروتوزوا .

من مركبات الزرنيخ المعروفة ، مركب السلفرسان ٦٠٦ Salvarsan 606 . ويعنى هذا التعبير ، المركب رقم ٦٠٦ فى سلسلة التجارب التى أجراها الكيميائى الألمانى Ehrlich عام ١٩٠٧ ، والسلفرسان مركب عضوى زرنيخى ، يحتوى على ٣٠% زرنيخ . ويتميز هذا المركب بفاعليته الشديدة ضد بكتريا *Treponema pallidum* المسببة لمرض الزهرى .

والرمز الكيميائى للسلفرسان ٦٠٦

$$H_2N(HO)C_6H_3-As{=}As-C_6H_3(OH)NH_2$$

Salvarsan 606, Dihydroxy diamino arseno benzene

٥- المواد المؤكسدة : Oxidizing agents

يعود التأثير القاتل للمواد المؤكسدة ، إلى عملية الأكسدة التى تسببها لمكونات الخليــة . فهذه المواد تستطيع هى ، أن تنتج أكسجينا حديث التولد ، أو تستطيع أن تنتجه من مواد أخــرى والأكسجين الذائب المتكون ، يستطيع أن يتحد بمكونات الخلية ويؤكسدها ، فيقف نشاطها .

وقد رتبت بعض المواد المؤكسدة ، تبعا لتأثيرها القاتل ، بالترتيب التنــازلى التــالى ، حيث أن أولها ، هو الأقدر مما يليه ، على قتل الميكروبات :

حامض النتريك HNO_3 ، حامض الدايكروميك $H_2Cr_2O_7$ ، الكلور Cl_2 ، حــامض البرمنجنيك $HMnO_4$. ورتبت الهالوجينات تنازليا كالآتى : الفلور F_2 ، الكلور Cl_2 ، الــبروم Br_2 ، اليود I_2 ، أى أن الفلور أقوى الهالوجينات ، واليود أضعفها ، ومع ذلك فيعتبر الكلــور واليود ، من أكثر الهالوجينات استعمالا فى التطهير .

من المواد المؤكسدة العضوية التركيب ، غاز أكسيد الاثيلين ، وقد بدأ استعماله يــتزايد فى أغراض التعقيم المختلفة . وسنتكلم عنه تحــت موضــوع المعقمــات الكيميائيــة الغازيــة (ص ١٤٣) .

٥-١- الكلور ومركباته

يعتبر الكلور الغازى ومركباته ، من أكثر المواد إستعمالا فى قتل الميكروبات . وعنــد إضافة الكلور إلى الماء ، يحدث التفاعل الآتى

$$Cl_2 + H_2O \longrightarrow HCl + HOCl$$

$$HOCl \longrightarrow HCl + O$$

فالكلور يكون مع الماء حامض الهيبوكلوريت Hypochlorous acid (HOCl) ، وهــذا ينتج أكسجينا حديث التولد Nascent oxygoen (O) .

وبذلك ، فإن غاز الكلور ، يؤثر على الميكروبات بطريقتين

- بأكسدة مكونات الخلية بواسطة الأكسجين حديث التولد ، والذى ينتج عند تفاعل غاز الكلــور مع الماء .
- بكلورة Chlorination مكونات الخلية ، وذلك بتفاعل الكلور المباشر مع بروتينات الخلية .

يستعمل غاز الكلور المسال ، أى المضغوط إلى سائل ، فى تطــهير ميــاه الشــرب ، ويضاف للماء بأجهزة خاصة ، بكميات تتراوح بين ٠,٢٥ الى ٢ جزء فى المليون ، وقد يحتــاج الأمر إلى زيادة الكمية المضافة إلى ٦ جزء فى المليون ، فى حالات تلوث المياه بالميكروبــات المرضية ، أو وجود أعداد كبيرة من الكائنات الدقيقة بالمياه ، أو إحتوائها على مواد عضوية .

ويستخدم الكثير من مركبات الكلور فى الأغراض الطبية والبيطرية ، لإنخفاض الآثار الضارة للكلور على الأنسجة الحية ، حتى إذا ما استعمل فى تركيزات تصل الى ٢٠٠ جزء فى المليون . كما تضاف مركبات الكلور للثلج المستعمل فى حفظ الأسماك ، وأيضا تستعمل مركبات الكلور بكثرة فى تطهير المياه المستعملة فى غسيل الخضروات ، وفى تطهير أدوات وأجهزة معامل الألبان .

ويلاحظ أن تأثير الكلور ومركباته ، يقل كثيرا فى وجود مواد عضوية خاصة البروتينات ، لأن جزءا من الكلور يتحد بها ، فتقل نسبته وتأثيره على الميكروبات ، ولذلك يشترط أن يكون الماء خاليا من الشوائب العضوية قبل معاملته بالكلور ، كما يشترط تنظيف الأدوات قبل تطهيرها بالكلور .

ويراعى عند استعمال الكلور ومركباته ، أن الغاز يميل إلى البخر من محاليله ، وهو غاز سام ، ورائحته مثيرة . ومن مركبات الكلور المستعملة بكثرة فى التطهير ، الهيبوكلوريتات والكلور أمينات .

الهيبوكلوريتات : Hypochlorites

يستعمل من هذه المواد بكثرة فى الأغراض المنزلية والصناعية ، هيبوكلوريت الصوديوم **Na OCl** ، المعروف تجاريا باسم كلوروكس **Chlorox** ، وهيبوكلوريت الكالسيوم **$Ca(OCl)_2$** ، المعروف باسم مسحوق قصر الألوان **Bleaching powder** ، وقد يعرف أحيانا باسم الجير المعامل بالكلور **Chlorinated lime** . وهذه المواد متوفرة بالأسواق ، بتركيزات مختلفة ، فى صورة سائل أو مسحوق .

عندما تضاف الهيبوكلوريتات إلى الماء ، يتكون حامض الهيبوكلوريت **HOCl** ، الذى يكون أكسجينا حديث ، نشط فى عملية الأكسدة . ويتضح ذلك من المثال التالى الخاص بمسحوق قصر الألوان ، **$Ca(OCl)_2$** .

يحضر مسحوق قصر الألوان ، بإمرار غاز الكلور على الجير الحى (أكسيد الكالسيوم، **(CaO)**)، فيتكون كالسيوم أكسى كلوريد ، **$Ca\ OCl_2$** ، **Ca-oxychloride** ، وهذا يكون هيبوكلوريت الكالسيوم **$Ca(OCl)_2$** ، يتفاعل مع الماء ويكون حامض هيبوكلوريت **HOCl** ، ثم اكسجين حديث التولد ، حسب المعادلات

$$CaO + Cl_2 \longrightarrow CaOCl_2 \longrightarrow Ca(OCl)_2$$

$$Ca(OCl)_2 + 2H_2O \longrightarrow Ca(OH)_2 + 2HOCl$$

$$HOCl \longrightarrow HCl + O\ (nascent)$$

ويستعمل محلول ١,٠% من هيبوكلوريت الكالسيوم فى التطهيرات المنزلية

ويستعمل محلول ٥-١٢% من هيبوكلوريت الكالسيوم كمطهر ، وكمزيل للألوان

ويستعمل محلول ١٠-٧٠% من هيبوكلوريت الكالسيوم فى تطهير أدوات وأجهزة معامل الألبان ومصانع الأغذية

ويستعمل ٥% من هيبوكلوريت الصوديوم Chlorox ، فى كثير من الإستعمالات المنزلية

الكلورأمينات : Chloramines

يوجد مواد عديدة من الكلورأمينات تستعمل فى التطهير ، وفى التعقيم الجزئى لمياه الشرب ، وأبسط هذه المواد فى التركيب ، هى مادة الكلور أحادى الأمين ، NH_2Cl ، Monochloramine .

تحضر الكلورأمينات ، بإحلال ذرة أو ذرتين من الكلور ، مكان ذرة أو أثنتين من ذرات الإيدروجين الموجودة فى مجاميع الأمين أو الأميد بالمركبات العضوية

$$R\text{-}NH_2 \xrightarrow{Cl_2} R\text{-}NHCl \quad (or) \quad R\text{-}N = Cl_2$$

تتحلل الكلور أمينات مائيا ، وتكون HOCl ، وهذا يعطى اكسجينا حديث التولد ، وهو عامل مؤكسد قوى

$$R\text{-}NCl_2 + H_2O \longrightarrow R\text{-}NHCl + HOCl$$

$$R\text{-}NHCl + H_2O \longrightarrow R\text{-}NH_2 + HOCl$$

$$HOCl \longrightarrow HCl + O$$

من مميزات مركبات الكلورأمينات ، أنها أكثر ثباتا من الهيبوكلوريتات ، إذ أنها تنتج غاز الكلور ببطء ، فتطول بذلك فترة التطهير .

٥-٢- اليود ومركباته

اليود عامل مؤكسد ، ويؤدى فعله السام ، بإتحاده مع البروتين الخلوى والإنزيمى بالخلية الميكروبية . وله تأثير قاتل على عدد كبير من أنواع الفيروسات والبكتريا والفطريات .

ورغم أن اليود ، غير ثابت ، ويتحد بالمواد العضوية ، ومهيج للأنسجة الحية الرقيقة ، وسام إذا ابتلع ، إلا أنه من أوسع المواد إنتشارا كمطهر للجلد ، ويستعمل فى تعقيم التسلخات ، وتطهير الملوثات السطحية بجسم الإنسان والحيوان ، وفى تطهير موضع العمليات الجراحية قبل إجرائها .

ويستخدم اليود عادة ، فى صورة صبغة يود Iodine tincture بتركيز ٢% ، وهذه تحضر بإذابة ٢٠ جم يود فى ٥٠٠ مل ماء ، سبق أن أذيب فيها ٥٠ جم يوديد صوديوم ، ثم يكمل الحجم إلى لتر ، بإضافة كحول ٩٥% .

توجد مواد عضوية ، يدخل فى تركيبها اليود وتسمى Iodophors ، أى مواد حاملة لليود ، وهذه المواد تملك صفات اليود التطهيرية ، ولكنها تمتاز بأنها أكثر ثباتا ، أى ينساب منها اليود ببطء ، ولاتصبغ الجلد أو الأنسجة ، وعديمة الرائحة ، وغير مهيجة . وهذه المواد متوفرة تجاريا ، ومن أمثلتها Ioclide & Betadine ، وتستعمل فى التطهير ، كمحاليل بتركيز ٢٠٠ جزء فى المليون .

٥-٣- الفلور

يعتبر الفلور من أشد الهالوجينات فتكا بالميكروبات ، ولكن يحد من استعماله كمبيد للميكروبات الضارة ، تدخله فى نظم الأكسدة الحيوية بخلايا الكائن الذى سيعالج به .

يضاف الفلور إلى ماء الشرب ، بنسبة ١ جزء فى المليون ، للتقليل من نسبة تسوس الأسنان ، ويضاف أيضا الفلور الى معاجين الأسنان ، فى صورة فلوريد صوديوم أو فلوريد قصديروز ، للوقاية من التسوس .

٥-٤- فوق أكسيد الإيدروجين

يحتوى المحلول التجارى من فوق أكسيد الايدروجين على ٣% تقريبا H_2O_2 ، وهو يستعمل فى تطهير خدوش الجلد السطحية ، لأنه يتحلل بسهولة ويعطى أكسجين حديث .

ورغم أن فوق أكسيد الايدروجين غير سام للأنسجة ، وغير مهيج لها ، إلا أنه غير ثابت ، وقوته التطهيرية بسيطة ، وإذا استعمل فى وجود الدم أو أنسجة حية ، فإن إنزيم الكاتاليز الموجود بهذه الأنسجة ، يحلله إلى ماء وأكسجين ، فيضعف تأثيره .

٥-٥- برمنجنات البوتاسيوم

استعمال برمنجنات البوتاسيوم ، $KMnO_4$ ، محدود فى عمليات التطهير ، لأن هذه المادة إذا استعملت بتركيز أكبر من ٠,٠١% ، تصبغ الأنسجة ، وتسبب تآكلها ، كما أنها تتفاعل مع المادة العضوية ، وتتحول إلى ثانى أكسيد المنجنيز MnO_2 ، غير الفعال فى التطهير .

٥-٦- الأوزون

غاز الأوزون ، O_3 ، شديد التأثير على الخلايا الخضرية ، ولكن نظرا لغلو ثمنه ، وقدرته الضعيفة على الإختراق ، فإن استعماله محدود ، إلا فى بعض الحالات ، كما فى تنقية المياه .

الكيميائيات العضوية

مجموعة كبيرة من المواد العضوية ، لها تأثير مضاد على الميكروبات ، ومنها مايستعمل كمطهرات ومعقمات . ومن أهم هذه المواد ، الصابون والمنظفات ، والفينولات ، وبعض الكحولات ، والألدهيدات ، والغازات ، وكذلك بعض المواد العضوية المعدنية ، مثل مركبات الزئبق والفضة العضوية ، وقد سبق ذكرها .

من المواد الكيميائية العضوية

١- الصابون والمنظفات : Soaps and detergents

الصابون هو عبارة عن أملاح الصوديوم أو البوتاسيوم ، للأحماض الدهنية العالية كالإستياريك ، ويعتبر الصابون من المطهرات الأنيونية متوسطة القوة .

يعتمد تأثير الصابون والمنظفات فى التطهير ، على الإزالة الميكانيكية للكائنات الدقيقة من السطوح التى تغسل بها ، مثل الأيدى والملابس والأرضيات ... الخ ، كما أن الصابون والمنظفات ، من المواد التى تقلل من قوة الجذب السطحى للماء ، وتجعله أكثر قدرة على التغلغل فى الأشياء المغسولة ، وبذلك يستطيع الماء أن يبلل الأشياء وينتشر بسهولة بين جزيئات الأوساخ ، ويصبح أكثر قدرة على التنظيف . ويضاف إلى ذلك قدرة الصابون ، على إزالة الزيوت والمواد الملوثة الأخرى ، وإحداثه لتفاعل قلوى ضار بالميكروبات .

ويزداد أثر الصابون ، اذ إستعمل مع الماء الساخن ، وقد لوحظ أن إضافة بعض المواد المطهرة إليه ، تزيد من قدرته التطهيرية ، مثل إضافة مادة Hexachlorophene (واسمها التجارى جـ ١١) بنسبة ١% إلى صابون حـ ١١ ، أو إضافة الفينول أو الكريزول ، أو يوديد الزئبقيك .

وقد أدت الرغبة ، فى الحصول على أنواع محسنة من المنظفات ، ذات كفاءة عالية فى التطهير ، إلى انتاج منظفات تركيبية Synthetic detergents ، تستعمل فى غسيل الشعر ، كالشامبوهات Shampos ، وفى غسيل الملابس ، والأدوات المنزلية ، والغسالات الكهربائية .

تقسم المنظفات ، من الناحية الكيميائية ، إلى مجموعتين ، هما

- منظفات أنيونية Anionic detergents

تعتمد قوة تنظيف المركبات الأنيونية ، عندما تتأين ، ، على الجزء الأنيونى بالمركب ، الذى يتحد بالمجاميع القاعدية الفعالة ببروتين الخلية مثل مجموعة الأمين .
ومن أمثلة هذه المركبات الصابون ، وكبريتات الألكايل Alkyl sulfates مثل كبريتات لورايل الصوديوم Sodium lauryl sulfate

الصابون $[C_9H_{19}COO]^-$ Na^+

كبريتات لورايل الصوديوم $[C_{12}H_{25}OSO_3]^-$ N^+

- منظفات كاتيونية : Cationic detergents

تعتمد قوة تنظيف المركبات الكاتيونية ، عندما تتأين ، على الجزء الكاتيونى بالمركب، الذى يتحد بالمجاميع الحامضية الفعالة ، ببروتين الخلية ، مثل مجاميع الكربوكسيل ، ومن أمثلة هذه المركبات ، مركبات الأمونيوم الرباعية ، التى من مركباتها ، السيبرين Ceepryn . والمنظفات الكاتيونية ، أشد تأثيرا فى قتل الميكروبات ، من المنظفات الأنيونية ، والرمز الكيميائى لمركب السيبرين ، هو

$$\left[C_5H_5N-C_{16}H_{33} \right]^+ Cl^-$$

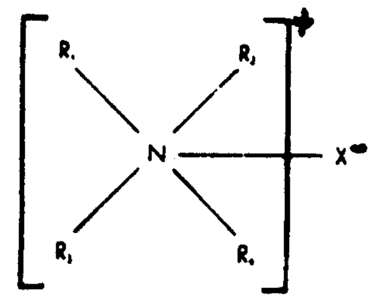
Cetylpyridinium chloride (Ceepryn)

وبالإضافة إلى المجموعتين السابقتين (الأنيونية والكاتيونية) ، فإنه ، توجد مجموعة ثالثة من المنظفات ، وهى منظفات غير متأينة ، وقدرتها التطهيرية والتنظيفية ضعيفة .

٢- مركبات الأمونيوم الرباعية : Quaternary ammonium compounds

تُدرج هذه المركبات ، تحت مجموعة المنظفات الكاتيونية ، لأن فعلها المبيد يظهر فى الكاتيونات(+) الناتجة من تأينها . وهذه الكاتيونات ، تتحد ببروتين الخلية الميكروبية ، فيتوقف نشاطها . كما يعود تأثير هذه المركبات ، إلى تخفيضها لقوة الجذب السطحى وإتلافها لغشاء الخلية السيتوبلازمى ، مما يؤدى إلى خروج محتويات الخلية وموتها .

تشتق هذه المركبات ، من أملاح هاليدات الأمونيوم ، مثل NH_4Cl ، باستبدال ذرات الإيدروجين الأربع ، بمجموعات الكايل مختلفة ، وعلى ذلك ، فيمكن أن يرمز للتركيب الكيميائى لهذه المركبات ، بالرمز العام التالى



الرمز العام لمركبات الأمونيوم الرباعية

$R_{1,2,3,4}$: المجموعات المحتوية على الكربون

X^- : الأيون السالب الشحنه مثل Cl^- & Br^-

ويوجد من هذه المركبات ، العديد من المواد ، مثل مادة السيبرين Ceepryn .

ونظرا لأن هذه المركبات ، تتميز بصفاتها المبيدة للميكروبات ، وتأثيرها المنظف ، وثبات فعاليتها لمدد طويلة نسبيا ، وعدم تأثيرها على سطوح المعادن ، وأنها غير مهيجة حتى فى التركيزات العالية ، لذلك ، فإنها الآن تستعمل بكثرة فى أغراض التطهير بالنسبة للأدوات والأوانى بالمطاعم ، وفى مصانع الأغذية ومعامل الألبان ، والمستشفيات .

تؤثر هذه المركبات على البكتريا ، خاصة الموجبة لصبغة جرام ، كما تؤثر على الفطريات والبروتوزوا ، ويتراوح تأثيرها ، من قاتل عند استعمال التركيزات العالية (مثل ١ فى الألف إلى ١ فى العشرة آلاف) ، إلى تأثير موقف للنمو ، عند استعمال التركيزات المنخفضة مثل ١ فى المائة ألف .

يقل تأثير مركبات الأمونيوم الرباعية ، فى وجود المواد العضوية ، والمواد التى تعادل تأثيرها مثل الصابون والمنظفات الأنيونية ، كما أن مركبات الأمونيوم الرباعية ضعيفة التأثير على الفيروسات ، والجراثيم البكتيرية والفطرية .

٣- الأحماض العضوية : Organic acids

يرجع التأثير القاتل للأحماض العضوية جزئيا إلى أيونات الإيدروجين الحرة ، ولكن التأثير الأكبر يعود إلى جزيئات الحامض غير المتأينة .

تستعمل الأحماض العضوية فى التطهير ، لأن تأثيرها الضار على الجلد والأنسجة والأدوات محدود . ويختلف تأثير هذه الأحماض ، بإختلاف تركيب جزيئاتها غير المتأينة ، فحامض الخليك والبروبيونيك أشد تأثيرا على الفطر ، بينما نجد أن حامض البنزويك والساليسيليك أشد تأثيرا على البكتريا ، ويستعمل محلول مركز من حامض البوريك فى تطهير العين ، لقلة ضرره على الجلد والأغشية .

أما حامض اللاكتيك ، فإنه يعتبر المادة الحافظة الأساسية فى المخللات ، والجبن والألبان المتخمرة ، والسيلاج . ويتكون حامض اللاكتيك فى هذه المواد أثناء عملية التخمر ، وهو يتميز بقوته التطهيرية ضد كثير من البكتريا ، خاصة تلك المحللة للبروتين .

٤- الكحولات : Alcohols

الكحولات مطهرات متوسطة القوة ، وتأثيرها ضعيف على الخلايا المتجرثمة . ويعتبر الإيثانول C_2H_5OH ، من أهم الكحولات إستعمالا كمطهر للجلد . وهو ذو تأثير قاتل على الميكروبات ، إذا استعمل بتركيز من ٥٠ إلى ٧٠% ، حيث يؤدى الكحول فى هذا التركيز ، إلى تخثر البروتين الخلوى الميكروبى . ونظرا لأن هذا التخثر ، يتم فى وجود تركيز معين من الكحول والماء (٥٠-٧٠% كحول) ، فإن استعمال تركيزات متدرجة أعلى من ذلك أو أقل ، يقلل تدريجيا من القوة القاتلة للكحول ، حتى تنعدم . ويعمل الكحول أيضا على إذابة المواد الدهنية المفرزة أو الموجودة على سطح الجلد ، وبذلك ، يعمل الإيثانول كمنظف ، ويساعد على الإزالة الميكانيكية للميكروبات .

وقدرة الإيثانول المطهرة ، أعلى من الميثانول CH_3OH . والكحول الأخير شديد السمية ومؤذى للعين ، لذلك يندر استعماله كمطهر . أما الكحولات الأخرى ، مثل البروبانول والبيوتانول وغيرها ، فإن استعمالها كمطهر محدود ، لصعوبة أو لعدم امتزاجها بالماء كلما زاد وزنها الجزيئى ، رغم أن تأثيرها الإبادى أكبر من الإيثانول ، لزيادة وزنها الجزيئى .

وللجلسرول فاعلية كبيرة كمطهر ، إذا استعمل فى صورة مركزة ، ويعود ذلك إلى قدرته على انتزاع الماء من الخلايا الميكروبية وتجفيفها ، أى أن له تأثير مجفف Dehydrating effect .

٥- الفينولات : Phenols

ينتج الفينول C_2H_5OH (وقد يسمى الفينيك أو حامض الكربوليك Carbolic acid)، من التقطير الإتلافى للخشب والفحم والغاز . ويعود تأثير الفينول القاتل ، إلى تفاعل مجموعة OH الفينول مع مجاميع الأمين الحرة لبروتين الخلية ، وتكوين بروتينات غير ذائبة ، ترسب ، فتموت الخلية الميكروبية . كما أن الفينولات الثنائية مثل هكساكلوروفين ، تثبط بقوة انزيمات مثل Succinoxidase, Cytochrome oxidase and Lactic dehydrogenase ، وبالإضافة

الى ذلك ، فإن الفينول ، يخفض من قوة الجذب السطحى عند سطح خلية الميكـــروب ، فتتلــف نفاذية الخلية .

يعتبر الفينول المبيد الأساسى ، الذى تقارن به المبيدات الأخـــرى ، لتقييمـــها وتقديـــر ثمنها . ويسمى هذا القياس "معامل الفينول "Phenol coefficient ، ويجرى الإختبـــار بـــالمعمل *in vitro* ، أى خارج الجسم الحى .

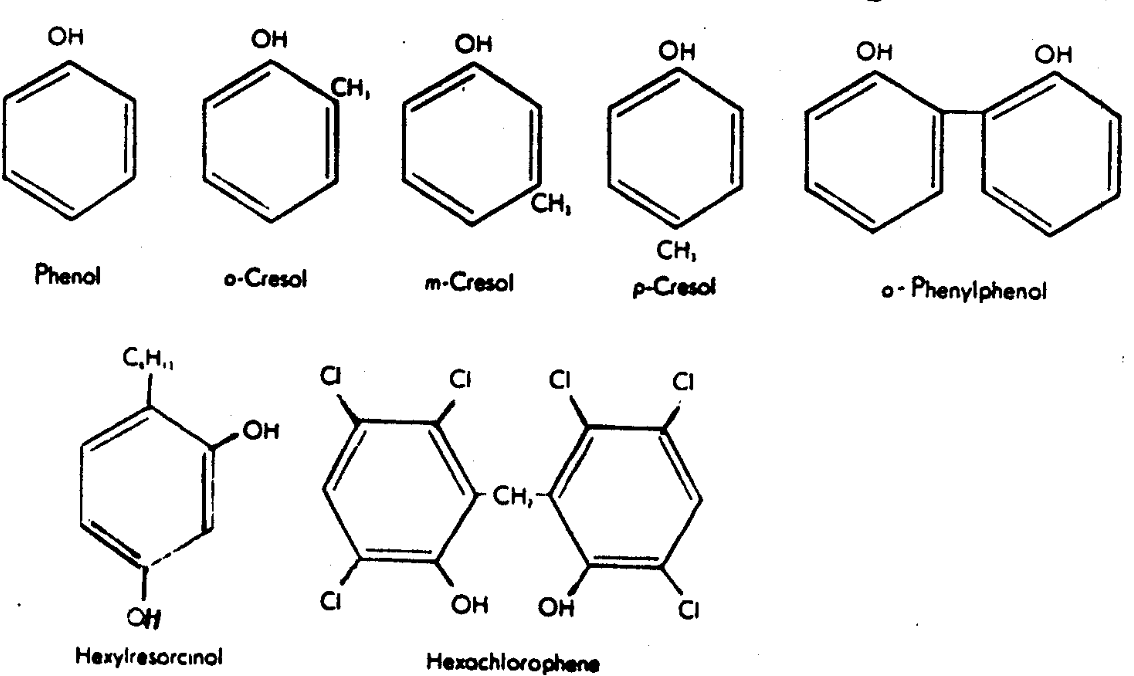
ويعرف معامل الفينول ، بأنه خارج قسمه أكبر تخفيف للمادة المختبرة ، التـــى تميـــت بكتريا التيفود *Salmonella typhi* فى عشر دقائق (وليس فى خمس دقائق) ، مقسوما على أكبر تخفيف من مادة الفينول ، الذى يعطى نفس النتيجة .

وعلى ذلك ، فالمادة المختبرة التى لها معامل فينول = ١ ، تعتبر مساوية للفينول فـــى تأثيرهـــا القاتل ، والمادة التى لها معامل فينول أكبر من ١ ، تعتبر أشد فتكا من الفينول ، أما المادة التـــى لها معامل فينول أقل من ١ ، فإنها تعتبر أقل تأثيرا على الميكروبات من الفينول .

يستخدم الفينول كمادة قاتلة للميكروبات ، التى على أسطح المواد غير الحية ، كمحلـــول مائى بتركيز ٥% . وهو مركب ثابت ، له تأثير كبير على الخلايا الخضرية للبكتريا والفطـــر ، غير أنه قليل التأثير على الخلايا المتجرثمة والفيروسات . ويضعف تأثيره فـــى وجـــود المـــواد العضوية ، لأنه يتحد معها ، وكذلك يضعف تأثيره فى وجود الصابون والزيوت .

وفى الماضى ، كان الفينول شائع الاستعمال كمطهر ، خاصة فى المستشفيات (رائحـــة المستشفى) ، ولكن استعماله الآن أصبح محدودا ، بسبب غلو ثمنه ، ورائحته النفـــاذه ، وآثـــاره السامه . وقد تم التغلب على ذلك ، بعمل مشتقات للفينول تستعمل بأمـــان كمطـــهرات للجلـــد ، وتضاف للصابون لزيادة قوته التطهيرية ، كما تمتاز هذه المشتقات بأنها أشد فتكا بالميكروبـــات من الفينول نفسه .

والرموز التالية توضح تركيب الفينول وبعض مشتقاته المستخدمة كمطهرات



٦- الكريــزول : Cresol

الكريزول $CH_3 - C_6H_4OH$ ، من مشتقات الفينول ، إلا أن الكريزول يتميـــز عـن الفينول بشدة فاعليته ، وبقوته الإبادية الأكبر ، وباحتفاظه بقوته فى وجود المواد العضوية ، وقد يضاف الكريزول للصابون ، لزيادة قوة الصابون التطهيرية .

ويؤثر الكريزول على نفس الأنواع الميكروبية ، التى يؤثر عليها الفينول ، وهو مثـل الفينول فى أنه ضعيف التأثير على الجراثيم والفيروسات .

الكريزول المستعمل تجاريا فى التطهير ، عبارة عن خليـــط مــن ثــلاث مشــابهات Tri-cresol ، هى أورثو (التى توجد فيها بدائل ذرتى الإيدروجين فـــى الوضـــع المتعـــامد) ، والميتا (البدائل فى الوضع المتباعد) ، والبارا (البدائل فى الوضـــع المقـــابل) . ويطلــق اسـم الليزول Lysol ، على أحد مستحضرات اللـــيزول التجاريـــة ,Ortho hydroxy diphenyl) Cresylic acid) ، ويستعمل كمطهر بتركيز ١% .

٧- الألدهيدات والمواد المختزلة : Aldehydes and Reducing agents

يعتبر الفورمالدهيد والجلوتارالدهيد ، من أهم مركبـــات الألدهيـــدات المســـتعملة فـــى التطهير . وتأثير الألدهيدات القاتل ، يعود إلى قدرتها الإختزالية ، حيث تتحد مع مجاميع الأمين الحرة ($-NH_2$) التى ببروتين الخلية ، كما يعود تأثيرها إلـــى كســـرها لروابـــط الإيدروجيـــن بالبروتين ، فيتوقف نشاط الخلية الميكروبية ، وتموت .

٧-١- الفورمالدهيد : Formaldehyde

الفورمالدهيد ، HCHO ، مادة عديمة اللون ، صلبة فى درجـــة حـــرارة الغرفـــة ، وبارتفاع الحرارة ، تتحول إلى أبخرة غازية .

وتأثير الفورمالدهيد على الفطر ، أشد من تأثيره على البكتريا ، كما أن تـــأثيره علـــى الخلايا الخضرية أكبر من تأثيره على الخلايا المتجرثمة . ورغم أن الفورمالدهيد ، من المـــواد الفعالة فى الإبادة والتطهير ، إلا أن استعماله كمطهر أصبح محدودا ، لرائحة أبخرته النفاذه غير المقبولة ، ولتأثيره السام .

استعمالات الفورمالدهيد

محلول الفورمالدهيد العادى ، يسمى فورمالين Formalin ، وهو عبارة عن محلـــول مائى يحتوى على حوالى ٣٧-٤٠% فورمالدهيد بالإضافة إلى قليل من الكحول .

ويستعمل الفورمالين كمطهر قوى ، وفى حفظ العينات والنماذج النباتية والأنسجة الحيوانيـــة ، بالمتاحف لمدد طويلة . كما أن محلول ٥-١٠% فورمالدهيد ، له قوة قاتلة حتى فى وجود مـــواد عضوية . ومحلول ٠,١ – ٠,٥% يوقف نمـــو معظـــم الميكروبـــات . وقـــد تســـتعل أبخـــرة الفورمالدهيد فى تعقيم الأماكن المغلقة .

وبالإضافة إلى ذلك ، فإن من الاستعمالات الهامة للفورمالدهيد ، اســـتخدامه لتحويـــل التوكسين السام Toxin إلى توكسويد غير سام Toxoid . وهذا الأخير ، يستعمل كعلاج وقـــائى بحقنه فى جسم الانسان أو الحيوان ، لتكوين مضادات التوكسين Anti-toxins ، وهى أجســـام

مضادة تحمى الجسم من السموم الميكروبية . ومن السموم الميكروبية الهامة ، التى تقاوم بـــهذه الطريقة ، تلك السموم التى تفرزها بكتريا الدفتريا ، والتتانوس .

٧-٢- الجلوتارالدهيد : Glutaraldehyde

الجلوتارالدهيد عبارة عن محلول مشبع من الدهيـــد ثنـــائى Dialdehyde ، ورمـــزه الكيميائى CHO - CH_2 - CH_2 - CH_2 - CHO . ويســـتعمل الجلوتـــارالدهيد كمحلـــول ، بتركيز ٢% ، ومجاله الإبادى متسع ، فهو يؤثر على البكتريا الخضرية والمتجرثمة ، والفطـــر والفيروسات ، وهو يستعمل لتعقيم الأدوات الطبية ، على أن يكون التعرض له لمدة كافية ليتـــم التعقيم .

٧-٣- بعض المواد الأخرى المختزلة

بالإضافة إلى الألدهيدات ، فإن لبعض المواد الأخـــرى المختزلـــة ، مثـــل حـــامض الكبريتوز ، وأملاح الكبريتيت SO_3^{2-} ، تأثير قاتل على الميكروبات . فعند حـــرق الكـــبريت ، ينتج غاز ثانى أكسيد الكبريت SO_2 ، الذى يستعمل فى تبخـــير (كبرتـــة) Sulfuring براميـــل النبيذ ، وتبخير الفواكه المعدة للتجفيف ، لقتل الميكروبات ، وللمحافظة على لون الفاكهة .

٨- الصبغـــات : Dyes

تستعمل الصبغات بكثرة فى المعامل الكيميائية والميكروبيولوجية كدلائل أو كصبغات ، وقد لوحظ أن لبعض هذه الصبغات تأثير موقف لنمو الميكروبات .

ويرجع تأثير الصبغات على الميكروبات ، إلى إتحادها ببروتين الخليـــة الميكروبيـــة ، بروابط ضعيفة غالبا ، فتوقف نشاطها ونموها ، دون أن تقتلها . فالصبغـــات القاعديـــة، مثـــل أخضر المالاكيت وأزرق المثيلين والجنسيان البنفسجى والفوكسين القاعدى ، تتحـــد بالمكونـــات الحامضية للبروتين الخلوى ، مثل مجاميع الكربوكسيل ، أو بقايا حامض الفوسفوريك . بينمـــا ، تتحد الصبغات الحامضية مثل الأيوسين والفوكســـين الحـــامضى والنيجروســـين ، بالمكونـــات القاعدية للخلية ، مثل مجاميع الأمين ، والإيدروكسيل ، ومجاميع الإيميدازول .

ويتوقف تأثير الصبغات ، على الوسط الموجودة بـــه الميكروبـــات . فـــيزداد تـــأثير الصبغات القاعدية بازدياد قلوية الوسط ، ويزداد تأثير الصبغات الحامضيـــة بزيـــادة حموضـــة الوسط .

وبوجه عام ، فإن البكتريا الموجبة لصبغة جرام ، أكثر حساسية للصبغات ، من السالبة لجرام ، وتحتاج الأخيرة لايقاف نموها ، إلى حوالـــى مـــن ١٠٠ - ٢٠٠ ضعـــف التركـــيز ، المستعمل لإيقاف نمو البكتريا الموجبة لصبغة جرام ، فمثلا ، نجد أن صبغة أخضر المالاكيت ، توقف نمو البكتريا العنقودية *Staphylococcus aureus* ، إذا وجدت الصبغة فى البيئة بتركـــيز $١٠^{-٦}$ ، بينما لاتوقف الصبغة نمو بكتريا القولون *E. coli* ، إلا إذا زاد تركيزهـــا عـــن ١:٣٠ ألف ، ويستثنى من ذلك ، مجموعة البكتريا الصامدة للأحماض فهى مقاومة للصبغات ، رغـــم أنها موجبة لصبغة جرام .

ونظرا لأن الصبغات ، توقف نمو بعض المجاميع الميكروبية دون الأخرى ، أى أن تأثيرها انتقائى ، فقد استغلت هذه الظاهرة ، فى عمل بيئات إنتقائية ، لتنمية بعض المجاميع البكتيرية دون الأخرى ، كما فى حالة تنمية مجموعة بكتريا القولون .

يفضل فى بعض الأحيان ، استعمال الصبغات كمطهرات ، لأنها غير سامة ، ولاتسبب التهاباتا للأنسجة ، فتستعمل فى تطهير الجروح ، والأغشية المخاطية ، وتستعمل صبغة الجنسيان ، لتطهير التهابات الفم وجروح الجلد ، من البكتريا الموجبة لصبغة جرام ومن بعض الفطريات .

٩- الغرويات السائلة الهوائية ، الإيروسولات : Aerosols

تسمي السحب المتكونة من دقائق سائلة صغيرة جدا ، بالغرويات السائلة الهوائية ، أو الإيروسولات Aerosols . ويستخدم البروبيلين جليكول ، والجليكول ثلاثى الاثيلين ، فى انتاج الإيروسولات

$CH_2OH - CH_2 - CH_3$ Propylene glycol

$CH_2OH - CH_2 - O - CH_2 - CH_2 - O - CH_2 - CH_2OH$ Triethylene glycol

عند استعمال الإيروسولات ، تتكثف أبخرتها على الميكروبات الهوائية ، وتسبب موتها . وتأثير الجليكولات القاتل ، أقل من تأثير الفينولات والهالوجينات ، ولذلك ، يجب أن تستعمل الإيروسولات فى محاليل بتركيزات عالية (من ٥٠ الى ٩٠%) ، فكلما زاد تركيز الجليكول كلما زاد تأثيره القاتل .

تستعمل الإيروسولات ، فى قتل كثير من الميكروبات التى يحملها الهواء . ونظرا لأن أبخرة الإيروسولات تمتاز بأنها عديمة الطعم والرائحة ، وغير مهيجة ، وقليلة السمية للإنسان والحيوان ، وغير قابلة للانفجار ، ولاتسبب تأكلا بالمعادن ، لذلك فإنها تستعمل بكثرة فى الأماكن المغلقة لمقاومة البكتريا المرضية المحمولة بالهواء مثل *Streptococcus* ، والمسببة للإلتهابات الرئوية مثل *Diplococcus* ، وفيروسات الأنفلونزا .

والإتجاه الآن ، هو الحد من استعمال الإيروسولات والمواد الشبيهة ، لتأثير غازاتها المتصاعدة على ثقب غاز الأوزون ، بطبقات الجو العليا .

١٠- المعقمات الكيميائية الغازية : Gaseous chemo-sterilizers

يوجد الآن الكثير من المواد ، التى لايصلح لتعقيمها استعمال الحرارة العالية ، أو المعقمات الكيميائية السائلة . من أمثلة هذه المواد ، المواد البلاستيكية كالمحاقن ، وأنابيب الاختبار ، وأطباق بترى ، والماصات ، والمساحات والحجرات المقفولة (تبخير الحجرات) . وفى حالة هذه المواد ، فإن التعقيم بالغازات ، يعتبر هو الشيء العملى والفعال .

وفى هذه الطريقة من التعقيم ، تعرض المواد إلى الغازات ، وهى موضوعة فى حيز محدد مغلق ، على حرارة الغرفة . وبعد المعاملة ، يتم التخلص من الغازات .

من الغازات المستعملة أمين الاثيلين Ethylene amine ، وبروميد الميثـايل Methyl bromide ، وبيتا بروبيولاكتون Beta propiolactone ، وأكسـيد الأثيليـن Ethylene oxide (راجع الباب الثالث – موضوع التعقيم بالكيماويات ، ص ص ٦٥ ، ٦٦) . وأهم هذه الغـازات المستعملة الآن ، هو غاز أكسيد الإثيلين .

أكسيد الاثيلين

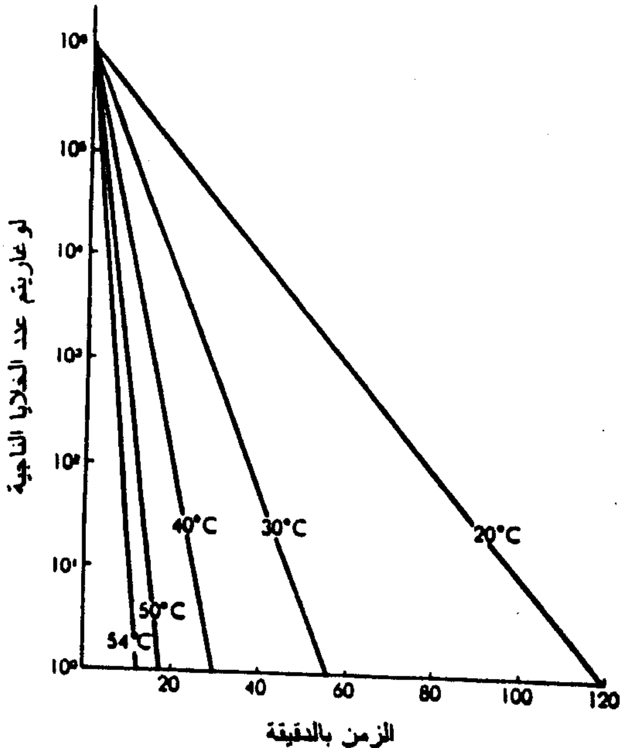
غاز أكسيد الاثيلين ، من المواد العضوية البسيطة التركيب ، ورمزه

$$H_2C—CH_2 \quad (\text{O bridge})$$

وهو سائل تحت درجة ١٠,٨°م (وهى درجة غليان الغاز) ، وفـوق درجـة ١٠,٨°م يتبخـر بسرعة . وأبخرة غاز أكسيد الاثيلين ، سريعة الاشتعال بالهواء حتى تحت التركيزات المنخفضة وقد تم التغلب على تلك العقبة ، بخلطه مع غاز ثانى أكسيد الكربون بنسبة ١٠ أكسيد اثيلين إلـى ٩٠ CO_2 ، أو بخلطه مع غاز الفريون Dichloro difluoro methane, Freon . وتسـتعمل هذه المخاليط الآن بشكل تجارى .

يعود تأثير غاز أكسيد الاثيلين ، إلى مايقوم به من عمليات ألكله للمواد العضوية ، بمـا فى ذلك الإنزيمات والبروتينات (راجع ص ٨٣) ، كما أن الغاز عامل مؤكسد قوى ، وهو قـاتل لكل الميكروبات ، وله قدرة عالية على إختراق المواد ، لذلك يستعمل فى تعقيم العبوات الكبـيرة بما تحويه داخلها من مواد ، كما يستعمل بكثرة لتعقيم المواد الحساسة للرطوبة والحرارة ، فـى المعامل الميكروبيولوجية ، والمستشفيات ، والمصانع .

وشكل [٤ (٣)-١] ، يوضح التأثير القاتل لفوق أكسيد الاثيلين على الجراثيم البكتيريـة ، تحـت درجات حرارة مختلفة .



شكل ٤ (٣)-١ : الإنخفـاض فـى عـدد جراثيم بكتريا *B. subtilis* الموجودة على شرائط ورق ، تحت درجـات حرارة مختلفة ، بتأثير غاز أكسـيد الاثيلين عند تركيز ١٢٠٠ مجم/لـتر ورطوبة نسبية ٤٠% .

From: **Pelczar and Chan, 1981**

ويوضح جدول [٤ (٣)- ١] ، وجدول [٤ (٣)- ٢] التقييم الخاص لبعض المــواد الكيميائيــة المضادة للميكروبات

جدول ٤ (٣) -١ : *تقييم بعض الكيميائيات المضادة للميكروبات .

المادة	التركيز المستعمل	الميكروبات المتأثرة: بكتريا - خضرية	بكتريا - متجرثمة	فطريات	فيروسات - كبيرة	فيروسات - صغيرة	مستوى النشاط
أكسيد الاثيلين غاز (في أوتوكلاف على درجة ٦٠°م)	٤٥٠-٨٠٠ مجم/لتر	+	+	+	+	+	عالي
جلوتارالدهيد محلول	٢%	+	+	+	+	+	عالي
فورمالدهيد + كحول	٨% + ٧٠%	+	+	+	+	+	عالي
فورمالدهيد محلول	٣-٨%	+	-	+	+	+	متوسط
يود + كحول	٠,٥% + ٧٠%	+	-	+	+	+	متوسط
كحول ايثانول	٧٠-٩٥%	+	-	+	+	+	متوسط
مركبات كلور	٤-٥%	+	-	+	+	+	متوسط
مركبات فينول	٠,٥- ٣%	+	-	+	+	-	قليل
مركبات أمونيوم رباعية	١ : ٧٥٠	+	-	+	+	-	قليل
مركبات زئبق	١ : ١٠٠٠	+	-	+	+	-	قليل

* From : **Pelczar and Chan, 1981.**

جدول ٤ (٣)-٢ : المجاميع الرئيسية للمواد الكيميائية المضادة للميكروبات .

المجموعة	طريقة التأثير	مركبات هامة للمجموعة	الاستعمال المفضل	محددات الاستعمال
الكلور ومركباته	الاتحاد بالبروتين الخلوى والإنزيمى	- الكلور الغازى المسال - الهيبوكلوريت	- تطهير المياه ومياه الشرب - تطهير الأدوات والأجهزة	- يحتاج لأجهزة خاصة - رائحة الغاز غير مقبولة - تقل كفاءته فى وجـود مواد عضوية
اليـــود	تثبيط الانزيمات والبروتينات	صبغة اليود ٢%	مطهر للجلد	مهيج للأغشية المخاطية
مركبات الأمونيوم الرباعية	- إتلاف البروتين الخلوى - إتلاف أغشية الخلية	- سيبرين - شديد التأثير على البكتريا . الموجبة لجرام ، والفطريات	- منظف للجلد - مطهر للأدوات والأوانى	- لايؤثر على الجراثيم - تقل كفاءته فى وجود مواد عضوية
الكحـــولات	- مبلل - عامل تجفيف - اتلاف البروتين - اتلاف أغشية الخلية	الايثانول بتركيز ٥٠-٧٠%	مطهر للجلد	مطهر فقط
الفينولات ومركباتها	- إتلاف البروتين - إتلاف أغشية الخلية	الكريزولات أشد تأثيرا من الفينولات	مطهر عام	- مهيج - أكل للمعادن
الألدهيدات	- إتلاف البروتين - كسر روابط ايدروجين البروتين	الفورمالدهيد ٤٠% الجلوتارالدهيد ٢%	- حفظ النماذج - تطهير الأدوات	- غير ثابت - الفورمالدهيد لايؤثر على الجراثيم
المعقمات الغازية	- تثبيط الإنزيمات - إضافة مجموعة الكايل للمواد العضوية	أكسيد الاثيلين قاتل لكل الأحياء	تعقيم الأدوات والأجهزة الحساسة للحرارة والرطوبة	- سام للانسان - قابل للاشتعال والانفجار - تأثيره بطىء - يحتاج لأجهزة مناسبة

المواد العلاجية الكيميائية والمضادات الحيوية :

Chemotherapeutic agents and Antibiotics

المواد العلاجية الكيميائية عبارة عن مواد كيميائية ، تستعمل داخل الجسم لعلاج الأمراض المعدية ، وهو مايسمى بالعلاج الكيميائى Chemotherapy ، أو تستعمل لمنع انتشار الأمراض ، وهو مايسمى بالعلاج الكيميائى الوقائى Chemoprophylaxis . ونحصل على هذه المواد إما بالتخليق الكيميائى بالمعامل، كما فى حالة مركبات السلفا ، أو من نواتج الكائنات الحية الميكروبية والنباتية ، كما فى حالة المضادات الحيوية .

ولكى تكون المادة الكيميائية مفيدة فى العلاج ، فانه يجب أن تتميز بسميتها الإنتقائية Selective toxicity ، بمعنى أن يكون للمادة ، القدرة على تثبيط أو قتل الطفيل ، دون أن تسبب ضررا لخلايا العائل ، كما يكون لتلك المادة القدرة ، على اختراق خلايا العائل ، دون أن تضرها ، ودون أن تؤثر على الجهاز الدفاعى المناعى للعائل مثل كرات الدم البيضاء والأجسام المضادة ، وأن تتميز المادة أيضا بثباتها ، بحيث لاتفسد من تأثير سوائل الجسم ، الغنية بالبروتينات .

وسنستعرض فيما يلى بعض المواد الكيميائية المستعملة للعلاج ، داخل الجسم

١- مركبات السلفا : Sulfonamides

تحتوى جزيئات جميع مركبات السلفا ، على ذرة كبريت ، فى الوضع بارا (الوضع المقابل) لمجموعة الأمين . وتعتبر مركبات السلفا ، من أوائل المركبات العضوية التركيبية ، التى استعملت بداخل جسم العائل ، لعلاج الأمراض البكتيرية . ويشير تعبير مركبات السلفا Sulfonamides ، إلى كل المركبات التابعة لهذه المجموعة .

وقد بدأ اكتشاف هذه المركبات عام ١٩٣٥ ، بواسطة العالم الألمانى دوماك Domagk ومساعديه ، الذين اكتشفوا المركب Paraaminobenzene sulfonamide ، ورمزه $NH_2 - C_6H_4 - SO_2\,NH_2$ ، وهو مركب معروف باسم السلفانيلاميد Sulfanilamide ، وقد تعرفوا على أحد مشتقات هذه المجموعة ، وهو مركب البرونتوسيل Prontosil ، وهو 2,4 diamine-azobenzene – 4`sulfonamide ، وتركيبه

$(NH_2)_2 - C_6H_3 - N = N - C_6H_4 - SO_2\,NH_2$

ووجد أن لهذا المركب تأثير مثبط على البكتريا المحللة لكرات الدم الحمراء β-hemolytic streptococci ، المسببة لالتهابات الزور ، والحمى القرمزية للإنسان .

مركبات السلفا ، من المواد الكيميائية ، المسماه Antimetabolites أو Metabolite antagonist ، أى أنها مواد مضادة لتكوين بعض نواتج الأيض الغذائى الهامة ، وذلك نتيجة لما تسببه من تثبيط تنافسى Competitive inhibition لإنزيمات الأيض الغذائى ، الخاصة بتكوين الأحماض الأمينية ، ومن ثم البروتينات .

فمركبات السلفا ، ذات تركيب كيميائى مشابه إلى حد ما ، لتركيب حامض البارا أمينوبنزويك الداخل فى تركيب حامض الفوليك . وبسبب هذا التشابه ، تعتبر مركبات السلفا ، موادا تنافسية مع حامض البارا أمينوبنزويك ، وتحل مكانه ، فيتكون بذلك مركب آخر غير حامض الفوليك ،

وهذا الحامض هو المجموعة النشطة فى تركيب بعض الانزيمات ومرافق الانزيم CoA ، وبتغير تركيب المجموعة النشطة لهذه الإنزيمات ، بسبب التنافس بين المواد الكيميائية الداخلة فى تركيبها ، يحدث تثبيط لهذه الانزيمات ، وتتوقف عمليات الايض الغذائى التى تقوم بها ، ويقف نمو ونشاط الميكروبات .

وعلى ذلك ، فإن مركبات السلفا تستطيع أن توقف نمو الميكروبات ، التى تمثل لنفسها حامض الفوليك ، وإلى هذا السبب ، يعود التأثير الإنتقائى لمركبات السلفا .

التأثير التثبيطى التنافسى لمركبات السلفا ، تأثير عكسى ، بمعنى أنه يمكن معادلته ، بإضافة المزيد من حامض البارا أمينوبنزويك . ولذلك ، فإنه يمكن تقليل ، أو الغاء الأثر الضار لمركبات السلفا على الميكروبات ، إذ أضيف للبيئة حامض البارا أمينوبنزويك ، أو حامض الفوليك ، أو أضيفت نواتج الأيض الغذائى ، التى أوقفت مركبات السلفا تكوينها ، مثل المثيونين، والسيرين ، والبيورين ، والبريمادين، لأن ذلك سيسمح باستمرار تفاعلات الأيض بشكل طبيعى. والرموز الكيميائية التالية توضح تركيب السلفوناميد ، والسلفانيلاميد ، وبارا أمينوبنزويك .

$H_2N-C_6H_4-SO_2-N(H)(R')$ (1)

(١) التركيب العام لمركبات السلفا (السلفوناميد) ويحل مكان `R المجاميع الموضحة بالصفحة التالية

SO_2NH_2 / NH_2 (a) — $COOH$ / NH_2 (b)

a : مركب بارأمينو بنزين سلفوناميد ، المعروف باسم السلفانيلاميد

b : مركب بارا أمينوبنزويك ، وهو يدخل فى تركيب حامض الفوليك

مركبات السلفا ، كما ذكر ، تثبط عمليات الأيض الغذائى ، وهى توقف نمو البكتريا دون ان تقتلها ، وهى تستعمل كبودرة توضع على الجروح لتطهيرها ، أو تستعمل داخليا لعلاج بعض الأمراض الناتجة عن البكتريا ، مثل التهابات الزور ، والالتهاب الرئوى ، والتهابات المجارى البولية والسيلان ، والإرتباكات المعوية ، وعند تناولها للعلاج ، فإنها توقف نمو البكتريا الممرضة ، فيسهل بذلك على أجهزة المقاومة بجسم العائل مثل كرات الدم البيضاءوالأجسام المضادة ، التخلص من الميكروبات .

ومن البكتريا التى تتأثر بمركبات السلفا:

Neisseria, Pneumococci, Staphylococci, *Streptococcus and Shigella*

ومن البكتريا التى لاتتأثر *Rickettsia* and *Salmonella* .

ونظرا لأن مركبات السلفا لها قيمة علاجية كبيرة ، فقد حضر منها عــدد كبـير مــن المركبات يزيد عن ستة آلاف ، ويستعمل بعضها داخليا للعلاج ، وتتميز المركبـات المسـتعملة عن المركب الأصلى السلفانيلاميد ، بشدة تأثيرها على الميكروبات ، وقلة ضررها على خلايـا العائل ، وإن كانت تختلف فيما بينها فـى مجـال تأثيرهـا الميكروبـى ، ودرجـة ذوبانـها ، وامتصاصها بالجسم ، وإفرازها مع بول العائل .

ويرجع التركيب الأساسى لهذه المركبات إلى مركب السـلفانيلاميد ، باسـتبدال ذرات الايدروجين التى فى مجموعة الأمين ، بمجموعات كيميائية أخرى مناسبة .

ومن أمثلة هذه المركبات الشائعة

المجموعة الكيميائية الداخلة فى تركيب مركب السلفوناميد (-R`)		الاسم التجارى متبوعا بالاسم التصنيفى
Pyridine	مجموعة بايريدين	Sulfapyridine (N'-2-Pyridylsulfanilamide)
S—CH, CH, N, —C — Thiazole	مجموعة تيازول	Sulfathiazole (N'-2-Thiazolysulfanilamide)
Pyrimidine	مجموعة بريمادين	Sulfadiazine (N'-2-Sulfanilamidopyrimidine)
4-Methylpyrimidine (CH_3)		Sulfamerazine [N'-(4-Methyl-2-pyrimidyl)-sulfanilamide]
4,6-Dimethylpyrimidine (CH_3, CH_3)	مجموعة بريمادين	Sulfamethazine [N'-(4,6-Dimethyl-2-pyrimidyl)-sulfanilamide]
—C(NH_2)(NH_2) Guanidyl	مجموعة جوانيديل	Sulfaguanidine (N'-Guanylsulfanilamide)

ورغم أن مركبات السلفا أرخص ثمنا من المضادات الحيوية ، وليـس لـها تـأثيرات ضارة على فلورا الجسم الطبيعية مثل المضادات ، إلا أنها أبطأ من المضادات فى التأثير علـى الميكروبات . وقد قل حاليا استخدام مركبات السلفا فى العلاج ، بسبب توفر الأنواع المتعددة من المضادات الحيوية ، ذات المجالات الابادية المختلفة ، والتى تتميز أيضا بسرعة تأثيرها .

٢- المضادات الحيوية : Antibiotics

كلمة مضاد حيوى ، تعنى ناتج أيض غذائى لأحد الكائنات ، له تأثير قاتل أو موقف لنمو كائن آخر ، بكميات صغيرة جدا . وبمعنى أشمل ، فإن المضادات الحيوية ، عبارة عن مواد كيميائية عضوية ، تفرزها بعض الكائنات الحية ، كنواتج ثانوية لعمليات الأيض الغذائى ، تستطيع بتركيزات ضئيلة ، قتل أو إيقاف نمو كائنات أخرى .

وأول من أستعمل تعبير مضاد حيوى Antibiotic بمعناه الحالى ، هو واكسمان عام ١٩٤٥ .

ويرجع الفضل فى إكتشاف المضادات ، إلى العالم البريطانى Alexander Fleming عام ١٩٢٨ بجامعة لندن ، عندما لاحظ التضاد ، فى أحد تجاربه ، بين الفطر *Penicillium notatum* والبكتريا العنقودية *Staphylococcus aureus* ، ثم تمكن من التعرف على المادة المضادة التى أوقفت نمو البكتريا ، وهى البنسلين ، وهى كلمة إشتقها فلمنج من اسم الفطر المنتج للمادة المضادة .

ولم تتضح أهمية هذا الإكتشاف الخطير ، إلا أثناء الحرب العالمية الثانية ، عندما استعمل البنسلين بنجاح ، بدلا من مركبات السلفا ، فى علاج جرحى الحرب من تلوثات الجروح والأمراض الميكروبية القاتلة ، وتم إنقاذ أرواح الآلاف من الجنود المصابين ، وبذلك ، بدأ عصر المضادات الحيوية ، بإنتاج البنسلين تجاريا عام ١٩٤٢ .

بعد إكتشاف البنسلين ، تمكن Dubos ومساعدوه عام ١٩٣٩ من عزل بكتريا عصوية متجرثمة من التربة هى *Bacillus brevis* ، قادرة على انتاج بعض المضادات الحيوية ، سماها Gramicidin ، تؤثر على البكتريا الموجبة لصبغة جرام . وعقب ذلك ، اكتشف Selman Waksman ومساعدوه عام ١٩٤٠ ، الاستربتومايسين من الأكتينومايسيتات . وتوالت بعد ذلك الإكتشافات ، وأمكن انتاج الكثير من المضادات الحيوية ، باستخدام الميكروبات ، أو بطرق تخليقية ، وأمكن تحضير الكثير منها بحالة نقية .

وباستعمال المضادات فى العلاج ، فقد أصبح من السهل الآن ، علاج أمراض عديدة خطيرة ، كان لها آثار قاتلة فى الماضى ، مثل السل والدفتريا والالتهابات الرئوية ، والأمراض المعوية كالتيفود والكوليرا والدوسنتاريا ، والأمراض الجنسية كالزهرى والسيلان ... وغيرها من الأمراض .

ومن حسن الحظ ، فإن الكثير من الأنواع الميكروبية التى تنتج المضادات الحيوية ، توجد طبيعيا فى التربة ، ويمكن عزلها من التربة بسهولة . وقد وجد أن حوالى ٦٠% من المضادات التى تم التعرف عليها ، تنتج من الأكتينومايسيتات و١٠% من البكتريا و١٥% من الفطريات ، وكلها ميكروبات تعيش فى التربة . أما الباقى (حوالى ١٥%) ، فإنه ينتج من كائنات أخرى كالطحالب وبعض النباتات والحيوانات .

ولبعض الكائنات القدرة على انتاج أكثر من مضاد ، مثل بكتريا *Bacillus brevis* التى تنتج Gramicidin & Tyrocidin ، وفطر *Aspergillus fumigatus* الذى ينتج Fumigatin, Fumigacin & Gliotoxin ، كما لوحظ أن المضاد الواحد قد ينتجه أكثر من ميكروب ، مثل البنسلين الذى ينتجه كل من : *Penicillium notatum, P. chrysogenum & Aspergillus flavus*

المضادات الحيوية كمواد علاجية كيميائية : Antibiotics as chemotherapeutic agents

نظرا لأهمية المضادات العلاجية ، ونتيجة للبحوث المستمرة ، فقد ظهر العديد منـــها ، وأمكن التعرف على مايزيد عن ٣٠٠٠ مضاد ، حوالى ٢٥٠٠ منها تنتجه الميكروبات . وأغلب هذه المضادات شديد السمية للإنسان ، أو ضعيف التأثير على الميكروبات ، ولذلك فهى لاتصلح للعلاج ، ولكن قد تصلح لأغراض أخرى . والصالح للعلاج مـــن تلـــك المضـــادات المكتشـــفة محدود ، لايزيد عن ٦٠ نوعا .

والمضادات إما أن يكـــون تأثيرهـــا علـــى الميكروبـــات قـــاتل ، مثـــل البنسـلينات والإستربتومايسين ، خاصة فى التركيزات العالية ، أو يكون تأثيرهـــا موقـــف لنمـــو ونشـــاط الميكروبات مثل التتراسايكلينات . وفى الحالة الأخيرة ، فإن أجهزة الجســم الدفاعيـــة ، تتولـــى التخلص من الميكروبات التى توقف نشاطها .

ويتجه البحث دائما ، للكشف عن مضادات جديدة ، ذات فعالية كبيرة ضد الميكروبات، خاصة ضد تلك الميكروبات التى أصبحت لاتتأثر بالمضادات الجارى استعمالها ، نتيجة تكـــون طفرات ميكروبية مقاومة .

عموما ، فإنه يجب أن تتوفر فى المضادات الحيوية المستعملة كمواد علاجية ، بعـــض الشروط التى منها

* أن يكون للمضاد ، القدرة على قتل أو تثبيط الميكروب الممرض ، دون أن يضـــر بخلايـــا العائل .
* كلما كان للمضاد مجال ميكروبى متسع Broad-spectrum ، أى يؤثر على أنواع متعددة مـــن الميكروبات ، (كالبكتريا الموجبة والســـالبة لصبغـــة جـــرام ، والخمـــائر ، والفطريـــات ، والريكتسيا... وغيرها) ، كلما كان مضادا أفضلاً ، وكانت له قيمة علاجية أكبر .
* أن لايتسبب المضاد المستعمل ، فى تكوين طفرات ميكروبية مقاومة للمضادات ، وأن لايؤثر على الإتزان الميكروبى الموجود طبيعيا بالجسم ، وأن لايسبب حساسية للعائل .
* أن لايُثبَّط المضاد بأحماض المعدة عند تناوله عن طريق الفم ، وأن لايتحد ببروتينـــات الـــدم عند تناوله حقنا ، وأن يكون له درجة ذوبان عالية فى سوائل الجسم .

ويراعى دائما ، استعمال المضاد بحرص وتحت إشراف طبى ، وبالجرعات المناسبة . فلبعض المضادات آثار جانبية خطيرة ، كما يسبب بعضها مشاكل حساسية لبعض الأفراد ، وقـــد تتسبب فى قتل الميكروفلورا النافعة الموجودة طبيعيا بالقناة الهضمية ، مـــن بكتريـــا وفطـــر وبروتوزوا ... ، التى يقوم بعضها بتجهيز الفيتامينات اللازمة للجسم ، ولذلك ، فإنه يلزم إعطاء المريض الذى يعالج بالمضادات ، كمية كافية من الفيتامينـــات ، خاصـــة التابعـــة لمجموعـــة فيتامين ب .

ويوضح جدول [٤ (٣) - ٣] خواص واستعمالات بعض المضادات المنتجة بواســـطة الميكروبات ، والتى يستعمل بعضها فى العلاج .

جدول ٤ (٣)-٣ : خواص واستعمالات بعض المضادات المنتجة بواسطة الميكروبات .

المجموعة الكيميائية	اسم المضاد الشائع (والتجارى)	الميكروب المنتج	الميكروبات المتأثرة	طريقة التأثير
Aminoglycosides	Streptomycin	*Streptomyces griseus*	بكتريا جرام موجب ، جرام سالب ، والصامدة للأحماض	تثبيط عمل الرايبوسوم 50S (أى تثبيط تكوين البروتين)
	Neomycin (Flavomycin)	*S. fradiae* [1]	مثل الإستربتومايسين	تثبيط عمل الرايبوسوم 50S
	Kanamycin (Kantrex)	*S. kanamyceticus*	مثل الإستربتومايسين	تثبيط عمل الرايبوسوم 50S
B-Lactams	Penicillins* Ampicillin*	*P. chrysogenum* [2] *P. chrysogenum*	البكتريا الموجبة لجرام البكتريا السالبة لجرام	منع تكوين جدار الخلية منع تكوين جدار الخلية
Benzene derivative	Chloramphenicol** (Chloromycetin)	*S. venezuelae*	ذات مجال ميكروبى متسع بكتريا موجبة وسالبة ، وريكتسيا ، وبعض الفيروسات الكبيرة	تثبيط عمل الرايبوسوم .
Cyclohexane	Cycloheximide (Actidione)	*S. griseus*	الفطريات المترممة	تثبيط تكوين الدنا DNA
Heterocyclic-oxygen compounds	Griseofulvin (Grifulvin)	*P. griseofulvin*	الفطريات الممرضة لسطح الجلد	إتلاف الغشاء السيتوبلازمى
Macrolides	Erythromycin (Erythrocin) Carbomycin* (Magnamycin)	*S. erythraeus* *S. halstedii*	البكتريا الموجبة لجرام البكتريا الموجبة لجرام	تثبيط عمل الرايبوسوم 50S تثبيط عمل الرايبوسوم 50S
Phenazine	Pyocyanin	*Ps. aeruginosa* [3]	أنواع عديدة	تثبيط عملية التنفس (لايستعمل طبيا)

(1) S = *Streptomyces*
(2) P = *Penicillium*
(3) Ps = *Pseudomonas*

تابع جدول ٤ (٣)-٣ : خواص واستعمالات بعض المضادات المنتجة بواسطة الميكروبات .

المجموعة الكيميائية	اسم المضاد الشائع (والتجارى)	الميكروب المنتج	الميكروبات المتأثرة	طريقة التأثير
Polyenes	Amphotericin (Fungizone)	*S. nodosus*[١]	الكانديدا	تثبيط عمل استرولات الغشاء السيتوبلازمى
	Nystatin	*S. noursei*	الفطريات الممرضة والكانديدا	تثبيط عمل استرولات الغشاء السيتوبلازمى
	Fumagillin	*Aspergillus fumigatus*	بروتوزوا النوسنتاريا	تثبيط نفاذية الغشاء السيتوبلازمى
Polypeptides	Polymyxin G• (Aerosporin)	*B. polymyxa*[٢]	البكتريا السالبة لجرام	إتلاف الغشاء السيتوبلازمى
	Bacitracin•, P	*B. subtilis*	البكتريا السالبة لجـرام	منع تكوين جدار الخلية
	Subtilin P	*B. subtilis*	البكتريا الموجبة لجرام	منع تكوين جدار الخلية
	Gramicidin•	*B. brevis*	البكتريا الموجبة لجرام	تثبيط الفسفرة التأكسدية
Tetracyclines	Tetracycline•• (Achromycin)	*S. aureofaciens*	ذات مجال ميكروبى متسع بكتريا موجبة وسالبة لجرام وريكتسيا ، وبعض الفيروسات الكبيرة	تثبيط تكوين البروتين
	Oxytetracycline (Terramycin)	*S. rimosus*	ذات مجال ميكروبى متسع بكتريا موجبة وسالبة لجرام وريكتسيا ، وبعض الفيروسات الكبيرة	تثبيط تكوين البروتين
	Chlortetracycline•• (Aureomycin)	*S. aureofaciens*	ذات مجال ميكروبى متسع بكتريا موجبة وسالبة لجرام وريكتسيا ، وبعض الفيروسات الكبيرة	تثبيط تكوين البروتين

• : كثير من هذه المضادات عبارة عن خليط لعدة أنواع ، مثل بنسلين F, G, K, V, λ وبوليمكسين A, B, C, D

•• : تصنع هذه المضادات الآن بالتخليق الكيميائى

P : يستعمل هذا المضاد خارج الجسم ، لأن تأثيره الداخلى سام

١ - S : *Streptomyces*

٢- B : *Bacillus*

وفيما يلى ، وصف لبعض المضادات ، الممثلة للمجموعات الكيميائية المختلفة ، الشائعة الإستعمال فى العلاج

٢-١- البنسلين (مجموعة بيتا لاكتام) Penicillin

أكتشف البنسلين عام ١٩٢٨ بواسطة العالم البريطانى فلمنج ، وهو بذلك يعتبر من أوائل المضادات التى اكتشفت ، ومازال أكثرها استعمالا . والبنسلينات Penicillins ، هى مجموعة من المركبات ذات تركيب متشابه ، وإن كانت ذات أنشطة مختلفة . ومن الناحية الكيميائية ، فإن البنسلينات تتبع مجموعة البيتا لاكتام β-lactam antibiotics . ولجميع البنسلينات ، نواة مشتركة Common core ، وهى حلقة a fused β-lactam thiazolidine ring ولها سلاسل جانبية مختلفة ، تعطى لكل نوع من أنواع البنسلين ، خواصه ومميزاته .

البنسلينات الطبيعية : Natural penicillins

تنتج البنسلينات الطبيعية ، أثناء نمو ونشاط الفطر *Penicillium chrysogenum* أو *P. notatum* . وينتج بالمزرعة الفطرية ، حوالى ٦ أنواع من البنسلينات ذات الأساس الكيميائى المتشابه . ومن أهم هذه البنسلينات المنتجة :

Penicillin G (Benzyl penicillin), Penicillin F, K, V & X.

ويعتبر بنسلين ج ، أكثرها إنتشارا واستعمالا [أنظر شكل ٤ (٣)-٢] .

ويمكن تحضير البنسلينات الطبيعية ، كأملاح صوديوم أو بوتاسيوم . وكان تحضير البنسلينات فى البداية ، يتم فى صورة غير نقية . ولكن بتقدم تقنيات الانتاج ، أصبح من الممكن الحصول على البنسلينات بصورة نقية ، كما تم معرفة رمزها الكيميائى ، وبذلك استعملت الوحدة الوزنية ، بدلا من وحدة اكسفورد لتقدير قوة البنسلين .

ووحدة اكسفورد Oxford unit ، هى كمية البنسلين الموجودة فى واحد مل ، التى توقف فى دائرة قطرها ٢٤ مم ، نمو بكتريا *Staphylococcus aureus* ، النامية على بيئة الأجار المغذى بعد ٢٤ ساعة من التحضين على درجة ٣٧°م .

وتساوى وحدة أكسفورد فى نشاطها ، التأثير الناتج من استعمال ٠,٦ ميكروجرام بنسلين نقى (بنسلين ج ، Benzyl penicillin) ، وتسمى هذه الوحدة الوزنية ، بالوحدة الدولية International Unit. IU ، وهى تماثل تماما وحدة أكسفورد فى جميع الاستعمالات ، ولذلك تستخدم الآن الوحدات الدولية ، بدلا من وحدة اكسفورد .

تؤثر البنسلينات الطبيعية بصفة عامة على البكتريا الموجبة لصبغة جرام ، خاصة

Pneumococci , Staphylococci, Beta-hemolytic Streptococci and Clostridia

وتؤثر البنسلينات أيضا على بعض أنواع البكتريا السالبة لصبغة جرام ، مثل *Neisseria* المسببة للسيلان والالتهاب السحائى ، والسبيروكيتا المسببه للزهرى .

ولايؤثر البنسلين عادة على البكتريا السالبة لصبغة جـرام ، والريكتسـيا ، والخمـائر والفطريات ، والبروتوزوا ، لأن مجال تأثيره الأساسى ، هو طبقة الميورين الموجودة فى جـدار البكتريا فقط .

وتثبط البنسلينات الطبيعية بواسـطة الحـرارة ، والأحمـاض الأمينيـة الكبريتيـة ، وايدروكسيد الصوديوم ، وحامض الإيدروكلوريك (وهو موجود بالمعدة) ، وإنزيـم البنسـلينيز Penicillinase ، الذى تفرزه بعض الميكروبات كالبكتريا والفطر .

والبنسلينيز إنزيم مستحث Induced ، يفرز خارج الخلية الميكروبيـة Exoenzyme ، وهو من الإنزيمات المحللة مائيا . فإنزيم البنسلينيز البكتيرى ، يحلل البنسلين ج ، بكسر رابطـة البيتا لاكتام ، لذلك يسمى بيتا لاكتاميز β-lactamase ، أما انزيم البنسلينيز الفطرى ، فإنه يحلـل بنسلين V بكسره لرابطة الببتيد ، ولذلك يسمى بنسلين أميديز Penicillin amidase [أنظر شـكل ٤ (٣)-٢] .

البنسلينات نصف المخلقة : Semi-synthetic penicillins

أمكن بتفاعلات كيميائية مناسبة ، إضافة سلاسل جانبية مخلقة كيميائيا ، لنواة البنسـلين المنتجة طبيعيا من الفطر . وتسمى المواد الناتجة ، بالبنسلينات نصف المخلقة . ومن أهم هـــذه البنسللينات ، الأمبيسلين Ampicillin ، وهو يستعمل بكفاءة ضد مجموعة كبيرة مـن البكتريـا الموجبة والسالبة لصبغة جرام ، وإن كان يعاب عليه تأثره بالحموضة ، وبإنزيم البنسلينيز ، كما أنه يسبب حساسية شديدة لبعض الأفراد ، قد تصل للموت .

طريقة عمل وتأثير البنسلينات : Mode of action

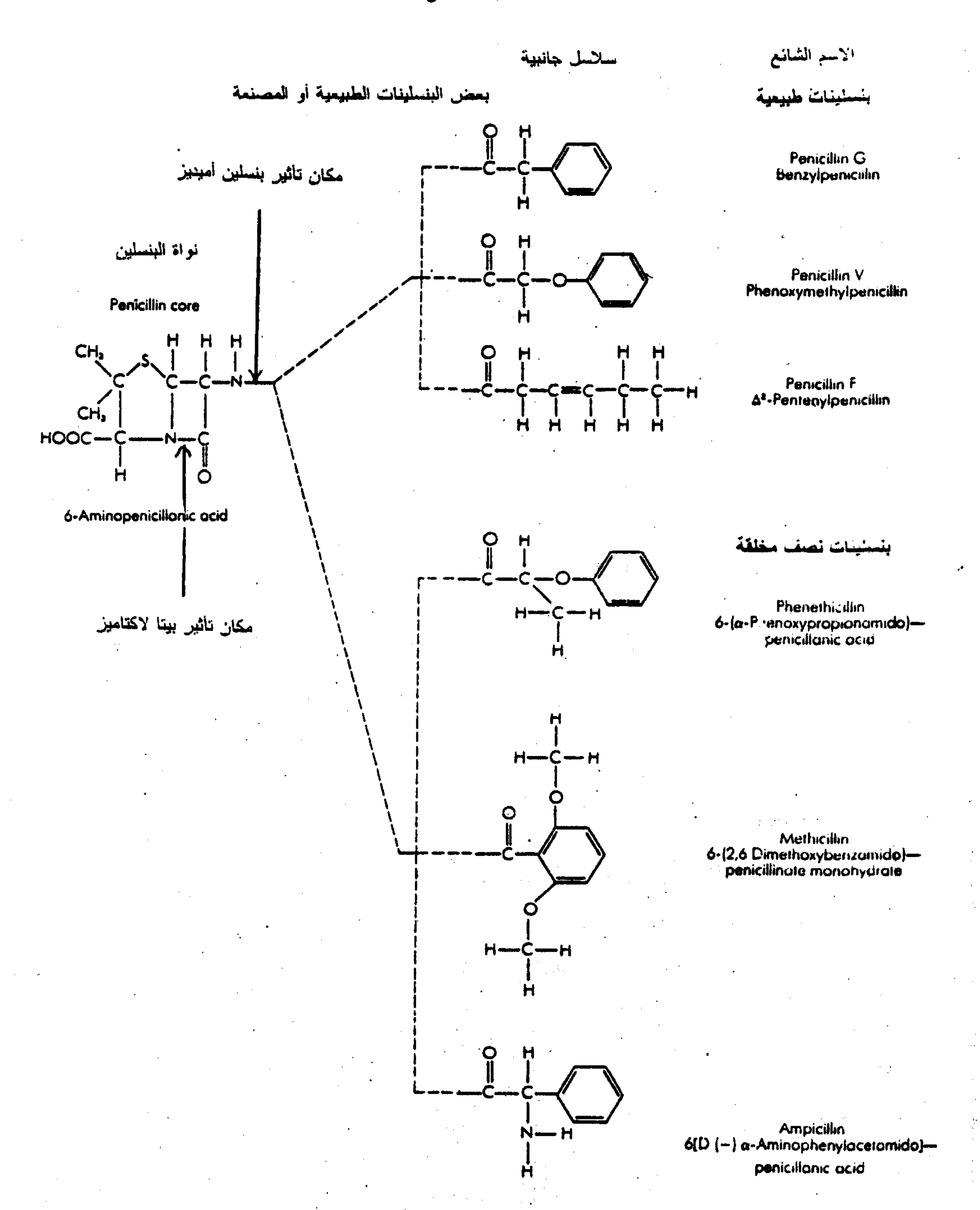
يمنع البنسلين تكون الجدار الخلوى الصلب للبكتريا ، التى فى طور النمو والتكويـن ، بإيقاف إرتباط حامض الاستايل ميراميك مع استايل جلوكوز أمين ، وهى المكونـات الأساسـية الداخلة فى تكوين طبقة ميورين جدار خلية البكتريا . ولايوجد هذا الـتركيب إلا فـى الكائنـات بدائية النواة ، كالبكتريا ، ويعنى هذا أن البنسلين يؤثر فقط على خلايا البكتريا .

ونتيجة لفقد البكتريا لجدارها الخلوى وهى فى طور التكوين ، فإن الخلايـا البكتيريـة تأخذ أشكالا غير طبيعية ، ويحدث بها استطالة وتكوين أشكال من نـوع L-form* ، ويتوقـف الانقسام الخلوى ، وتتأثر نفاذية الخلية ، وأخيرا تتحلل الخلايا وتموت .

ويتوقف مقاومة البكتريا للبنسلين ، على انتاجـها لإنزيـم البنسـلينيز ، الـذى يحلـل البنسلين .

---

* أنظر تذييل ص ٤٨٥



شكل ٤ (٣) -٢ : نواة البنسلين والتركيب الكيميائى للسلاسل الجانبية لبعض البنسلينات الطبيعية ونصف المخلقة ، ومكان تأثير إنزيم البنسلينيز .

استعمالات أخرى للبنسلين

بالإضافة إلى استعمال البنسلين فى الأغراض العلاجية ، فقد يستخدم أيضا فى المعامل الميكروبيولوجية ، لعزل الأنواع البكتيرية المقاومة للبنسلين ، مثل البكتريا السالبة لصبغة جرام ، والبكتريا المسببة للسعال الديكى والأنفلونزا ، كما يستعمل البنسلين لإيقاف نمو البكتريا فى الأنسجة الحيوانية ، المستعملة لدراسة الفيروسات ، لأنه من المعروف أن الفيروسات والخلايا الحيوانية مقاومة لأغلب المضادات .

٢-٢- الاستربتومايسين (مجموعة الأمينوجليكوزيدات) : Streptomycin

ينتج الأستربتومايسين من الأكتينومايسيتات ، *Streptomyces griseus* ، وهى من بكتريا التربة ، ومن الناحية الكيميائية ، ينتمى الاستربتومايسين ، لمجموعة الأمينوجليكوزيدات Aminoglycoside antibiotics ، وهى مركبات تحتوى على سكريات أمينية ، فى روابط جليكوزيدية ، وينتمى إلى هذه المجموعة [جدول ٤ (٣)-٣] بعض المضادات مثل Kanamycin, Neomycin, Streptomycin .

يؤثر الاستربتومايسين على كثير من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام ، وإن كان قد قل استعماله فى علاج بكتريا السل ، لسرعة تكوين بكتريا السل لسلالات مقاومة للأستربتومايسين .

طريقة التأثير

يؤثر الاستربتومايسين ، ومجموعة مضادات الأمينوجليكوزيدات ، على تمثيل الأحماض الأمينية ، ومن ثم يثبط تكوين البروتينات . ويتم ذلك باتحاد المضاد بوحدات الرايبوسوم التى بالخلية ، فيتوقف انتقال الأحماض الأمينية من الرنا الناقل Amino acyl transfer RNA ، الى وحدات البروتين الجارى تكوينه بالرايبوسوم .

كما أن هذه المجموعة من المضادات ، تؤثر على دورة كربس ، بتأثيرها على الإنزيمات الخاصة بربط حامض البيروفيك مع حامض الأكسال أستيك ، فيتوقف تكثف هذه المواد الداخلة فى تكوين الدورة .

وقد أمكن تحضير الإستربتومايسين بحالة نقية ، والوحدة الدولية IU للإستربتومايسين، هى الوحدة التى تساوى فى نشاطها ، التأثير الناتج من استعمال ١,٠ ميكروجرام استربتومايسين نقى .

٢-٣-التتراسايكلينات (مجموعة التتراسايكلين) : Tetracyclines

ينتمى إلى مجموعة التتراسايكلينات بعض المضادات مثل :

Tetracycline (Achromycin), Chlortetracycline (Aureomycin) and Oxytetracycline (Terramycin)

وهذه المضادات ، وإن كانت ذات صفات بيولوجية متشابهة ، إلا أنها تختلف عن بعضها فى مدى ثباتها ، وسميتها ، وفى تفاعلها مع بروتينات الجسم .

وتنتج التتراسايكلينات ، من بكتريا تابعة لجنس *Streptomyces* [جدول ٤ (٣)-٣] . وتمتاز هذه المجموعة من المضادات ، بأنها ذات مجال ميكروبى متسع ، فهى تؤثر على كثير من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام .

طريقة التأثير

تؤثر التتراسايكلينات على تمثيل الأحماض الأمينية والبروتينات ، بإيقافها إرتباط الرنا الناقل بالرايبوسوم ، أثناء تكوين واستطالة السلسلة الببتيدية .

والوحدة الدولية للتراسايكلين ، هى الوحدة التى تساوى فى نشاطها ، التأثير الناتج من استعمال ١,٠ ميكروجرام كلوريد التتراسيكلين النقى المتبلور .

يحضر التتراسايكلين الآن بطرق كيميائية ، مثله فى ذلك مثل الكلورامفنيكول . وإن كان الكلورامفنيكول يتبع مجموعة كيميائية أخرى غير مجموعة التتراسايكلين ، إلا أن كلا المركبين ، يمتازان بأنهما من الأنواع ذات المجال الميكروبى المتسع [جدول ٤(٣)-٣] .

والرموز الكيميائية التالية ، توضح تركيب التتراساكلينات والكورامفنيكول .

التركيب العام للسايكلينات ، ومواقع الاستبدال W, X, Y, Z على جزىء السايكلين

تركيب الكلورامفنيكول Chloramphenicol

NO_2
C
HC CH
HC CH
C
CHOH
$CHNHCOCHCl_2$
CH_2OH

ويبين جدول [٤ (٣)- ٤] أنواع بعض التتراسايكلينات

جدول ٤ (٣)-٤ : أنواع من التتراسايكلينات المشتقة من التركيب العام للسايكلين

المضاد الحيوى	مواقع الاستبدال بالجزىء			
	W	X	Y	Z
Tetracycline تتراسايكلين	-H	$-CH_3$	-OH	-H
Oxytetracycline أوكسى تتراسايكلين	-H	$-CH_3$	-OH	-OH
Chlortetracycline كلورتتراسايكلين	-Cl	$-CH_3$	-OH	-H
Minocycline مينوسايكلين	$-N(CH_3)_2$	-CH	-H	-H
Doxycycline دوكسى سايكلي	-H	$-CH_3$	-H	-OH

* W, X, Y, Z : مواقع الاستبدال على جزىء السايكلين

٢-٤- البوليمكسين (مجموعة عديد الببتيدات) : Polymyxin

تنتج البكتريا التابعة لجنس *Bacillus* ، مجموعة متعددة من المضادات ، ذات خصائص عامة متشابهة ، وتنتمى كيميائيا لمجموعة عديد الببتيدات Polypeptide antibiotics فينتج البوليمكسين من *B. polymyxa* ، وينتج الباسيتراسين والسابتيلين من *B. subtilis* ، والجراميسيدين من *B. brevis* [أنظر جدول ٤(٣)-٣] .

يؤثر البوليمكسين على كثيرا من البكتريا السالبة لصبغة جرام ، بما فى ذلك بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* التى كثيرا ماتسبب التهابات المجارى البولية . أما الباسيتراسين ، فانه يؤثر على البكتريا الموجبة لصبغة جرام ، ولايؤثر على السالبة لجرام ، وهو شديد السمية، ويجب أن يستعمل باحتراس .

طريقة التأثيـــــر

توقف هذه المضادات عمليات الأيض الخاصة بتكوين جدار الخلية ، كما أنـــها تتحـد بالغشاء السيتوبلازمى ، فتفسد عملية النفاذية ، وبعضها مثل الـــ Gramicidin يثبــط عمليـة الفسفرة التأكسدية Oxidative phosphorylation الخاصة بانتاج الطاقة .

المضادات الحيوية المضادة للفطريات : Antifungal antibiotics

من أمثلة هذه المضادات Nystatin, Griseofulvin and Amphotericin [أنظر جدول ٤ (٣) -٣]

وينتج النستاتين بواسطة بكتريا *Streptomyces noursei* ، وهو يفيد فى علاج الأمراض التـــى تسببها الخمائر والفطريات ، خاصة أمراض الجلد والأظافر ، والتهابات المـــهبل التـــى يســببها *Candida utilis* .

أما مضاد جريزيوفلفين ، فينتجه فطر *Penicillium griseofulvin* ، وهو يستعمل فـــى علاج كثير من الأمراض الفطرية السطحية ، أى التى تصيب سطح الجلد ، ولكنه لايؤثر علـــى الكانديدا أو البكتريا .

طريقة التأثيـــر

يؤثر النستاتين على خلايا الخمـــيرة والفطـــر ، باتحـــاده مـــع اســـتيرولات الغشـــاء السيتوبلازمى ، فتتأثر النفاذية الخلوية ، ويموت الفطر . ونظرا لأن الاستيرولات لاتوجـــد فـــى الأغشية الخلوية للبكتريا ، لذلك ، فإن هذه المضادات الفطرية ، لاتؤثر على البكتريا .

مقاومة الميكروبات للمضادات الحيوية : Resistance to antibiotics

تعود مقاومة الميكروبات للمضادات ، إلى عـــامل المقاومـــة الوراثـــى ,Resistance R-factor الذى كان موجودا أصلا بالميكروب ، وهو مايعرف بالمقاومـــة الطبيعيـــة Natural resistance ، أو تعود المقاومة إلى اكتساب الميكروب لعامل المقاومة ، وهو مايعرف بالمقاومة المكتسبة Acquired resistance . على سبيل المثال ، فإن مقاومة البكتريا للبنسلين ، قد تكـــون بسبب المقاومة الطبيعية ، وذلك نتيجة لإنتاج البكتريا لإنزيم البنســـلينيز الـــذى يوقـــف نشـــاط البنسلين ، أو تأتى المقاومة بسبب المناعة المكتسبة ، وذلك نتيجة لإكتساب ســـلالات البكتريـــا الحساسة للبنسلين ، صفة المقاومة للبنسلين ، بإنتاجها لإنزيم البنســـلينيز . وهـــذا يحـــدث فـــى سلالات البكتريا ، التى تأقلمت وراثيا ، وكونت طفراتـــا مقاومـــة للبنســـلين ، وبذلـــك تتكـــاثر وتسود ، فى وجود المضاد الحيوى ، على البكتريا الأخرى الحساسة للبنسلين .

قد تكتسب بعض أنواع البكتريا ، صفة المقاومـــة للبنســـلين ، دون أن تنتـــج إنزيـــم البنسلينيز ، وهذا يدل على أن هذه الأنواع ، سلكت طرقا أخرى بديلة فـــى الأيـــض الغذائـــى ، لاتتأثر بوجود البنسلين ، أو بغيره من المضادات ، إذ أن تأثير أغلب المضادات ، يعود كما ذكر سابقا ، إلى تثبيط بعض نظم الأيض الغذائى بالخلية الميكروبية .

إنتقال صفة المقاومة للمواد العلاجية الكيميائية الى الميكروبات

Transmission of chemotherapeutic resistance to microbes

عندما بدأ استعمال الكيميائيات فى العلاج ، مثل مركبات السلفا والمضادات الحيوية ، كانت مقاومة البكتريا لهذه المواد نادرة . وبانتشار استعمال هذه الكيميائيات ، اختفت الميكروبات الحساسة ، وزاد تدريجيا الأفراد الميكروبية المقاومة ، إلى أن سادت الأنواع المقاومة فى المزارع الميكروبية ، وأصبحت مقاومة الميكروبات للكيميائيات العلاجية ، تمثل الان مشكلة طبية وبحثية .

وقد كان الإعتقاد ، فى بداية ظهور أفراد بكتيرية مقاومة للمضادات أو الكيميائيات ، أن سبب ذلك ، هو حدوث تغير فى أحد الجينات بالخلية ، أدى إلى حدوث تلك المقاومة . ولكن بتطور الدراسات الخاصة بالمقاومة ، وجد أن سبب المقاومة فى بعض أنواع البكتريا ، يعود إلى أنها تحتوى فعلا على جين وظيفته حماية البكتريا ، والمثل على ذلك ، وجود الجين المسئول عن إنتاج إنزيم البنسلينيز بالأنواع البكتيرية العنقودية ، الموجبة لصبغة جرام ، المقاومة للبنسلين ، Penicillin-resistant Staphylococci .

الأفراد البكتيرية التى تملك عامل المقاومة ،تنمو وتسود فى وجود المادة الكيميائية المضادة ، بينما تموت وتختفى الأفراد الأخرى الحساسة . وبالإضافة إلى ذلك ، فإن عامل المقاومة ، قد ينتقل أثناء العلاج بالكيميائيات ، من ميكروب مقاوم Resistant organism ، إلى ميكروب أخر حساس للعقار Drug sensitive organism . ويتم هذا الإنتقال بين فردين تابعين لنفس النوع ، أو بين نوعين مختلفين تابعين لنفس الجنس ، أو بين جنسين مختلفين ، كما حدث عند انتقال عامل المقاومة من *Escherichia coli* إلى *Shigella dysenteriae* أو إلى أنواع تابعة لأجناس *Klebsiella & Salmonella* .

وكما هو معروف ، فإن هذا الانتقال يتم بواسطة التزاوج Conjugation ، وهو أكثر الطرق إنتشارا ، وقد ينتقل بواسطة التحول الوراثى Transformation ، أوبالاستقطاع Transduction.

وقد وجد بتطور الدراسات الوراثية ، أن عامل المقاومة R-factor ، يوجد فى البلازميد ، وهذه أجزاء صغيرة من حامض د ن أ ، توجد خارج الكروموسوم ، وخارج النواه ، وتتناسخ ذاتيا Self-replicating (راجع انتقال العوامل الوراثية فى البكتريا بالفصل الثانى من الباب الثامن) .

مقاومة الميكروبات للكيميائيات العلاجية ، موضوع له أهميته العلمية والتطبيقية . وتُجرى دراسات متعددة لمعرفة الطرق التى تسلكها الميكروبات لمقاومة تلك الكيميائيات ، وكيف تتغلب عليها ، مع محاولات بحثية مستمرة لإنتاج كيميائيات علاجية ذات فعالية كبيرة ضد الميكروبات ، ومثالا على ذلك ، محاولة انتاج بنسلينات مخلقة معمليا ، لاتتأثر بانزيم البنسلينيز .

ويمكن التقليل من ظهور سلالات ميكروبية مقاومة للمضادات ، بعدم الإسراف فى استعمال المضادات ، واستعمال الجرعة الكافية للقضاء على العدوى ، والامتناع عن استخدام المضادات الشائعة الاستعمال فى المنطقة لعلاج الأمراض المعدية المحلية ، واستعمال مخاليط المضادات الحيوية التى ثبتت كفاءتها العلاجية .

اختبارات حساسية الميكروبات للكيميائيات العلاجية : Susceptibility tests

تختلف حساسية الميكروبات للكيميائيات العلاجية ، من نوع لآخر ، ومن سلالة لأخرى داخل نفس النوع . وبالإضافة إلى ذلك ، فإن حساسية الميكروب لمضاد ما ، قد تتغير ، خاصة أثناء العلاج . وكل ذلك يوضح أهمية معرفة سلوك الميكروب ، ومعرفة نوع المضاد الذى يؤثر عليه بكفاءة أثناء العلاج ، وهذا يستلزم إجراء إختبارات حساسية للميكروبات نحو الكيميائيات المستعملة ، ويفضل أيضا ، إجراء إختبارات الحساسية ، من وقت لآخر أثناء العلاج ، لمعرفة التغيرات التى تحدث فى حساسية الميكروبات بالنسبة للكيميائيات المستخدمة .

تجرى اختبارات الحساسية فى المعامل الميكروبيولوجية ، باستعمال طريقة أنابيب التخفيف Tube dilution technique ، أو بطريقة الأطباق والأقراص الورقية Paper-disk plate technique ، وتستعمل طريقة أنابيب التخفيف ، لتقدير أقل كمية (أقل تركيز) من المادة الكيميائية ، التى تكفى لإيقاف نمو الميكروب المختبر ، وتعرف هذه الكمية باسم أقل تركيز موقف للنمو Minimum inhibitory concentration, MIC .

وتستعمل طريقة الأطباق لتقدير حساسية الميكروبات للكيميائيات . وهى أكثر الطرق المستعملة فى هذا الغرض ، وفى هذه الطريقة ، توضع الأقراص الورقية ، (وهى ذات مساحة وسمك موحد) ، المشبعة بتركيزات مختلفة من الكيميائيات المختبرة ، على سطح طبق بيئة إختبار صلبة ، ملقحة بالميكروب . وبعد التحضين ، يلاحظ مناطق التضاد Zone of inhibition ، وهى المناطق الرائقه الخالية من النمو الميكروبى ، التى تكونت حول الأقراص. ووجود منطقة تضاد ، حول قرص ما ، يدل على أن نمو الميكروب فى هذه المنطقة قد توقف ، بسبب المضاد الذى إنساب من القرص ، وانتشر خلال الآجار . ويدل قطر منطقة التضاد ، بشكل تقريبى ، على مدى حساسية الميكروب للكيميائيات المختبرة .

ويمكن الربط بين قطر منطقة التضاد (مم) ، ونوع المضاد المؤثر ، وتقدير MIC ، للميكروب المختبر ، وذلك عند استعمال ظروف موحدة من حيث كمية المضاد بالقرص ، والبيئة المستعملة ، وحجم اللقاح ، وظروف التحضين ... الخ .

مراجع الباب الرابع **References**

Block, S.S. (ed.) 1983. Disinfiction Sterilization and Preservation. 3rd Ed. Lea & Febiger, Philadelphia. USA.

Egorov, N.S. (1985). Antibiotics, A Scientific Approach. Mir. Pub., Moscow

Frobisher, M. 1974. Fundamentals of Microbiology, Saunders Co., London.

Hugo, W.B. and A.D. Russell (eds.) 1977. Pharmaceutical Microbiology. Blackwell Scientific Publications, London.

Lannette, E.H.; E.H. Spaulding and J.P. Truant (eds.) 1994. Mannual of Clinical Microbiology, 2nd Ed. American Society for Microbiology, Washington D.C.

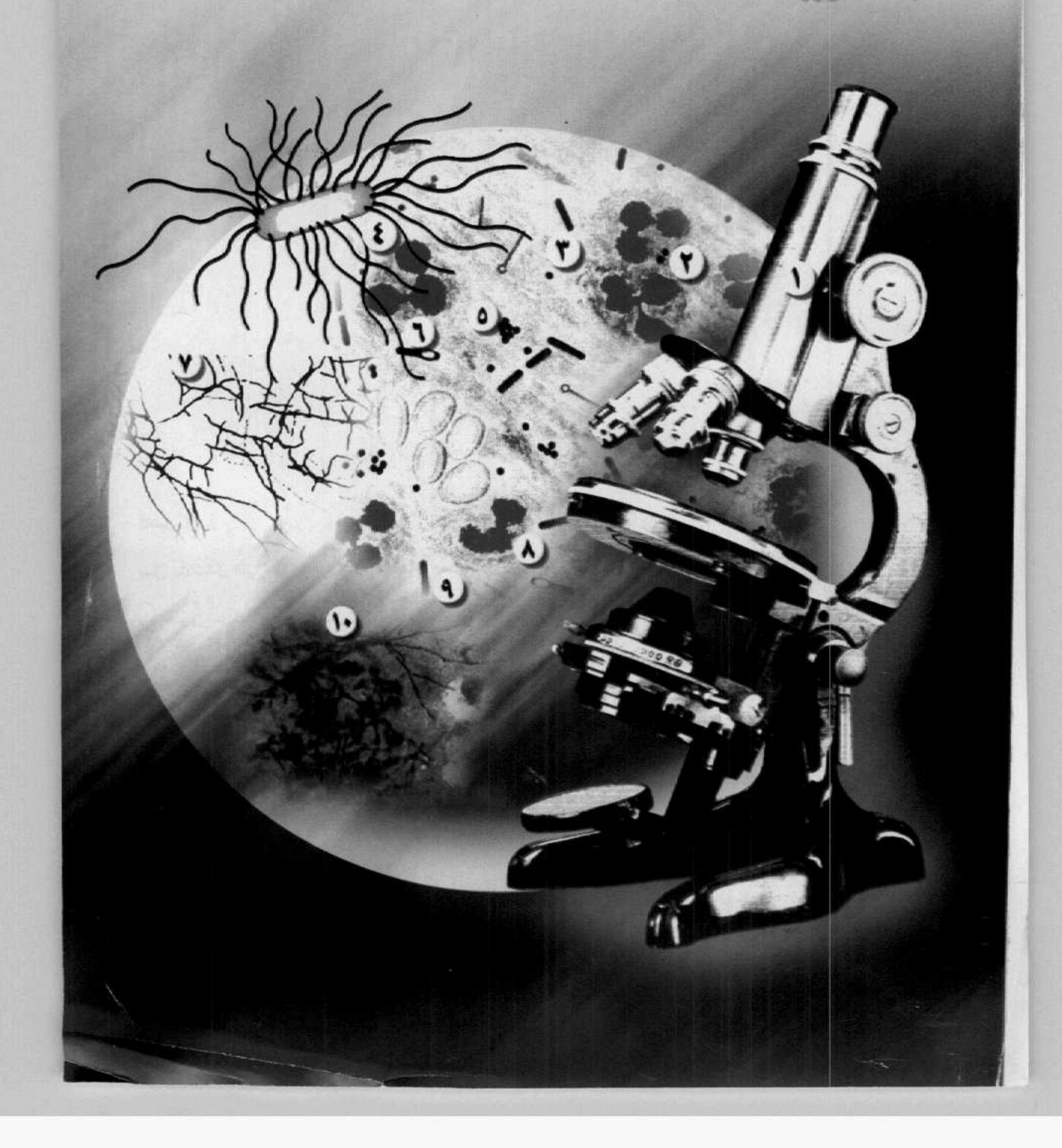
Pelczar, M.J.Jr. and E.C.S. Chan (1981). Elements of Microbiology. Mc Graw-Hill, Book Co. Inc., New York.

177

II

Bacteria

الجزء الثانى
البكتريـــــــا



فاصل ٢

بيان بالأشكال التى على ظهر هذه الصفحة

① مجهر مركب ، ② بكتريا كروية فى أزواج داخل خلايا صديدية ، ③ بكتريا عصوية متجرثمة كلوستريديوم
④ شكل تخطيطى لبكتريا ذات أسواط محيطية
⑤ بكتريا كروية ، ⑥ بكتريا عصوية متجرثمة كلوستريديوم ، ⑦ أكتينومايسيس
⑧ خلايا صديدية ، ⑨ بكتريا عصوية
⑩ أكتينومايسيس

﴿الباب الخامس﴾

الخلية البكتيرية وتركيبها

﴿الباب الخامس – الفصل الأول﴾

البكتريا ومظهرها الخارجى

المحتويــــات

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة

(الباب الخامس)

الخلية البكتيرية وتركيبها
Bacterial Cell and Its Structure

مقدمة

من مميزات الخلية البكتيرية الهامة ، حجمها ، وشكلها ، وطرق تجمعها ، وتشكل مجموعة هذه الصفات مايعرف بمورفولوجيا البكتريا ، وهى صفات لها أهميتها فى التعرف على البكتريا ، وفى تصنيفها .

وللخلية البكتيرية مكوناتها التركيبية التى تقع خارج جدارها ، أو تلك التى تقع بداخل جدارها ، وقد أمكن التوصل الى معرفة دقائق تلك المكونات بتقدم طرق الفحص المجهرى الضوئى والالكترونى وطرق الفحص المعملى .

وتختلف مكونات الخلية البكتيرية من نوع بكتيرى لآخر ، ليس فقط فى صفاتها الفيزيائية، بل وأيضا فى خواصها الكيميائية ، وخصائصها الوظيفية .

(الباب الخامس - الفصل الأول)

البكتريا ومظهرها الخارجى
Bacteria and Their Outer Appearances

تعريف البكتريا

تمثل البكتريا أبسط أنواع الكائنات الحية الخلوية ، وهى تضم مجموعة كبيرة من المجهريات الواسعة الانتشار فى الكرة الأرضية ، حيث توجد فى كل مكان تقريبا ، ولايخلو منها إلا أماكن محدودة .

والبكتريا كائنات حية دقيقة ، تتميز بالصفات العامة التى تتميز بها الأحياء جميعا ، وهى النمو والتكاثر والتنفس والتغذية والحركة والموت ، غير أن البكتريا وحيدة الخلية ، ذات حجم دقيق ، ولصغر حجمها فإنها لاترى بالعين المجردة ، حيث تحتاج لمشاهدتها إلى مجهر ضوئى ذو قوة تكبير عالية ، والبكتريا بدائية النواة Procaryota فنواتها غير محاطة بغشاء نووى ، وتتكاثر البكتريا عادة بالانقسام الثنائى البسيط Binary fission ، ولاتحتوى البكتريا على بلاستيدات خضراء ، وحتى الأنواع القليلة منها التى تحتوى على كلوروفيل بكتيرى ، فإنه لايوجد بداخل بلاستيدات خضراء .

ولصغر حجم البكتريا ، فإن إكتشافها وتقدم الدراسات الخاصة بها ، قد ارتبط بتطور المجاهر (الميكروسكوبات) بأنواعها المختلفة ، وبزيادة قدراتها التوضيحية .

تواجد البكتريا : Occurrence of bacteria

توجد البكتريا فى كل مكان تقريبا ، وهى بذلك تعتبر من أكثر الكائنات الحية إنتشارا فى الطبيعية ، فهى توجد فى التربة الزراعية بأعداد كبينرة تصل إلى عشرات الملايين فى الجرام الواحد من التربة ، وتزداد أعدادها فى الأراضى الخصبة عن غير الخصبة ، وفى الأراضى المنزرعة عن الأراضى البور ، وتكون أعدادها أكبر مايمكن فى الطبقات السطيحة من التربة وحول جذور النباتات ، وتقل مع العمق وفى المسافات الخالية بين النباتات .

وتوجد البكتريا فى الهواء من حولنا ، وتزداد أعدادها فى هواء الأماكن الملوثة ، وفى الأماكن المزدحمة ، وتقل أعدادها فى الأماكن جيدة التهوية النظيفة ، وعلى شواطىء البحر ، حيث تقل نسبة الأتربة المحملة بالميكروبات .

وتوجد البكتريا فى الغلاف الجوى المحيط بنا ، إلى ارتفاع يصل الى ٧ كيلومترات من سطح الأرض ، وفى مياه المحيطات حتى الطين بالقاع ، ويكون عدد البكتريا أكبر مايمكن بالقرب من سطح الأرض ، ويقل العدد مع الارتفاع بالجو ، ومع العمق بمياه المحيطات .

كما توجد البكتريا فى المياه العذبة والمالحة ، وفى مياه الينابيع الساخنة عند درجة ٧٥°م ، وفى الثلوج القطبية ، ويحتوى الماء الصالح للشرب على أقل من ١٠٠ خلية بكتيرية فى الواحد ملليلتر ماء ، وقد تخلومياه الآبار العميقة من الميكروبات ، حيث أن طبقات التربة التى تمر بها تلك المياه ، تعمل على ترشيح مابها من مواد عالقة وميكروبات ، أما المياه السطحية فإن محتواها الميكروبى يأتى من مصادر التلوث المختلفة التى تتعرض لها ، كمخلفات المجارى ، والتربة المحيطة ، ومن الهواء .

كما توجد البكتريا فىالأغذية والألبان ، ويحتوى اللبن الجيد غير المبستر على حوالى ٥٠ ألف خلية بكتيرية/مل . وتوجد البكتريا بأعداد وفيرة فى أمعاء الحيوان والانسان ، وبالتالى فإن مخلفات المجارى والمخلفات الحيوانية تحتوى على ملايين الملايين من البكتريا ، وقد يوجد من بينها أنواع ممرضة ، فربع براز الانسان عبارة عن ميكروبات

أما الأماكن التى لاتوجد فيها البكتريا فإنها قليلة جداً ومحددة ، وهى

- دم الانسان السليم ودم الحيوان السليم .
- الأنسجة النباتية والحيوانية السليمة .
- المواد القاتلة للبكتريا كالأحماض والقلويات .
- الأوانى والمواد المعقمة .
- فوهات البراكين النشطة .

الشكل المورفولوجى للبكتريا : Morphology of the bacterial cell

يتضمن دراسة الشكل المورفولوجى للخلية البكتيرية ، معرفة حجمها وشكلها وطريقة تجمعها وحركتها . وعموما فإن خلية البكتريا لاتختلف كثيرا من ناحية التركيب الخلوى عن خلايا الكائنات الأخرى وحيدة الخلية ، ولصغر حجم البكتريا المتناهى ، فتتم دراستها بالفحص

المجهرى بعد معاملتها بمعاملات خاصة مع استعمال الأصباغ البسيطة والمركبة (الصبغات التفريقية) ، حتى يمكن التعرف على أجزاء الخلية المختلفة ومكوناتها ، وتتم الدراسة فى تحضيرات جافة غير مصبوغة عند استعمال المجهر الالكترونى للتعرف على الأجزاء والمكونات الدقيقة الداخلية للخلية البكتيرية ، التى يصعب التعرف عليها بالمجهر الضوئى ، لكونها تقع خارج قدرته التوضيحية .

حجم البكتريا : Size of bacteria

الخلية البكتيرية ضئيلة الحجم ولذلك تقاس أبعادها بالميكرومتر (الميكرون) Micrometer, µm ، وهو يساوى ١ × ١٠$^{-٣}$ من المليمتر ، كما تقاس بالنانومتر (ملليميكرون) Micrometer, nm وهو يساوى ١ × ١٠$^{-٣}$ من الميكرومتر . وتؤخذ القياسات البكتيرية باستخدام المجهر الضوئى المركب ، بالاستعانة بمقياس العينية Ocular micrometer والشريحة الميكرومترية Stage micrometer .

يتراوح قطر أغلب الخلايا البكتيرية بين ١,٠ الى ٥,٠ ميكرومتر ، ومع هذا ، فهناك أنواع من البكتريا أصغر أو أكبر من هذه القياسات ، فمن البكتريا ماهو صغير جدا ويشاهد بصعوبة بالغة بالمجهر الضوئى المركب ، مثل البكتريا العصوية *Dialister pneumosintes* التى يتراوح طول خليتها بين ٠,١٥ إلى ٠,٢٠ ميكرومتر ، ومنها ماهو كبير نسبيا مثل البكتريا الحلزونية *Spirillum volutans* التى يصل طولها الى ١٥,٠ ميكرومتر وعرضها إلى ١,٥ ميكرومتر .

وعند أخذ قياسات البكتريا ، فإنه يجب أن نضع فى الاعتبار أن أغلب هذه القياسات يتم فى تحضيرات للبكتريا مثبتة ومصبوغة ، وتؤدى معاملات التثبيت والصبغ المستعملة فيها الحرارة إلى انكماش الخلية البكتيرية ، وبالتالى الى نقص فى حجمها بمقدار الثلث تقريبا ، إذا ماقورنت بالقياسات التى تتم على بكتريا حية فى نقطة معلقة .

ويلاحظ أيضا أن حجم الخلية البكتيرية يتأثر بعمر المزرعة ، فالخلايا الحديثة غالبا ماتكون أكبر حجما من الخلايا المسنة . ويعود السبب فى نقص حجم الخلايا بازدياد العمر ، الى زيادة الضغط الأسموزى فى المزرعة المسنة ، وإلى تجمع فضلات الايض الغذائى ومايصاحبه من تأثير ، ومن حدوث تغيرات بالبيئة النامية بها الخلايا .

وزن الخلية البكتيرية : Weight of bacteria

وزن الخلية البكتيرية فى منتهى الصغر ، وتحتوى الخلية فى المتوسط من ٧٠ إلى ٨٥% ماء ، وكثافتها النوعية تتراوح بين ١,٠٤ الى ١,١٠ ، وتزن الخلية الواحدة من البكتريا العصوية متوسطة الحجم ٢ × ١٠$^{-١٢}$ من الجرام ، ويعنى هذا أن جراما واحدا من مادة الخلايا الرطبة غير المجففة ، يحتوى على ٥٠٠ × ١٠^{٩} خلية ، ويحتوى الجرام الواحد من الخميرة الجافة على حوالى ١ × ١٠^{١١} خلية جافة .

علاقة سطح الخلية البكتيرية بوزنها : Bacterial surface to weight ratio

نظراً لصغر حجم الخلية البكتيرية ، فإن النسبة مابين سطح الخلية الى وزنها تكون كبيرة جداً ، وذلك مقارنة مع تلك النسب الموجودة فى الأحياء الأرقى . وهذه النسبة المتسعة بين السطح والوزن بالبكتريا ، تعتبر ميزة كبيرة للخلية البكتيرية من الناحية الايضية ، فالبكتريا تتغذى بالانتشار الغشائى ، وتخرج منها الفضلات بالانتشار الغشائى أيضا ، لذلك فإنه كلما زادت مساحة السطح ، كلما زاد نشاط ونمو البكتريا ، وهذا يفسر قدرة البكتريا على أن تستعمل ، أو تستهلك ، كميات كبيرة من العناصر الغذائية ، مما يجعل التغيرات التى تجريها البكتريا فى الوسط الذى تعيش فيه كبيرة ، وتتم فى فترة وجيزة .

وفى نفس الوقت فإن صغر حجم الخلية ، يجعل المسافة التى تنتقل فيها العناصر الغذائية بالخلية محدوداً ، فلاتحتاج الخلية الى حركة السيتوبلازم . أو بذل جهداً أو طاقة كبيرة ، لإجراء عمليات دوران للمواد الغذائية ، كما يحدث فى الكائنات الأرقى .

ولتوضيح مدى الزيادة فى مساحة السطح بالنسبة للوزن ، كلما نقص الحجم ، نأخذ المثال التالى

نفرض أن لدينا مكعبا وزنه ٦ جرام ، وأبعاد أضلاعه هى ١ × ١ × ١ سم ، فتكون مساحة مسطح ذلك المكعب هى ٦ × ١ × ١ = ٦ سم^2 ، وتصبح نسبة مساحة السطح إلى الوزن

$$\frac{\text{مساحة السطح}}{\text{الوزن}} = \frac{٦}{٦} \text{ ، أى } = ١$$

فإذا قسمنا هذا المكعب الى ١٠٠٠ مكعب متساو ، طول ضلع كل منها ٠,١ سم ،

فتصبح مساحة أسطح المكعبات الصغيرة الناتجة =

= ٦ × (٠,١ × ٠,١) × ١٠٠٠ = ٦٠ سم^3

$$\text{وتكون النسبة مابين مساحة السطح / الوزن } = \frac{٦٠}{٦} = ١٠$$

وهكذا ، فكلما زدنا من تقسيم المكعبات ، كلما زادت النسبة مابين مساحة السطح الى الوزن .

وبالمقارنة مع الخلايا الحية ، نجد أن نسبة مساحة السطح الى الوزن ، كما يلى

فى بكتريا *E. coli* = ٥٠ ألف
وفى بروتوزوا الأميبا = ٤٠٠
أما فى الانسان فإن هذه النسبة = ٠,٢٤

أى أن نسبة مساحة السطح / الوزن فى الخلية البكتيرية ، أكبر بحوالى ٢٠٠ ألف مرة من النسبة فى حالة الانسان .

إن كمية المادة المستهلكة بواسطة الخلية البكتيرية الواحدة ، صغيرة جدا بطبيعة الحال ولكن إذا ماارتبط ذلك بمساحة سطح الخلية ووزنها ، فإننا نلاحظ أن نسبة مساحة السطح المرتفعة الى وزن الخلية البكتيرية ، تؤدى الى حدوث زيادة كبيرة فى إستهلاك البكتريا للمواد الغذائية بالنسبة الى وزنها ، فعلى سبيل المثال ، فإن البكتريا المخمرة لسكر اللاكتوز ، تستطيع أن تستهلك كمية من اللاكتوز تتراوح بين ألف الى ١٠ آلاف مرة ضعف وزنها فى خلال ساعة واحدة من الزمن ، بينما يحتاج الانسان إلى ٢٥٠ ألف ساعة (أى حوالى ٢٩ سنة) لاستهلاك ألف ضعف وزنه من اللاكتوز .

لذلك فان العلاقة ذات النسبة المتسعة مابين سطح الخلية البكتيرية إلى وزنها ، يجب أن توضع فى الإعتبار عند تقدير نشاط البكتريا ، إذ أنه كلما صغرت الخلية ، كلما كبرت مساحة سطحها بالنسبة لوزنها ، وبالتالى كلما زاد نشاطها الحيوى ، ومعدل إمتصاصها ، وزادت سرعتها فى إحداث التغيرات الكيميائية بالوسط .

أشكال البكتريا : Shape of bacteria

تتميز أغلب أنواع البكتريا بوجود جدار صلب يعطى للخلية شكلها المميز . والبكتريا الحقيقية True bacteria ذات شكل بسيط ، ولخلاياها ثلاثة أشكال رئيسية [شكل ٥ (١) - ١] ، هى

١ - الشكل الكروى Spherical ، واسمه العلمى Coccus (والجمع Cocci) .

والبكتريا الكروية قد تكون مستديرة كما فى جنس *Micrococcus* & *Staphylococcus* ، أو لاتكون كاملة الاستدارة فتأخذ الشكل البيضى Oval كما فى جنس *Rhodomicrobium* ، أو كروية عصوية Coccobacilli كما فى جنس *Moraxella* ، أو كلوية الشكل Kidney shape كما فى جنس *Neisseria* ، أو أهليجية الشكل Ellipsoidal كما فى جنس *Desulfobacter* .

البكتريا الكروية عادة مايكون طولها مساو لعرضها ، وتتميز أنواع البكتريا الكروية عن بعضها بنظام تجمعها نتيجة لطريقة انقسامها ، كما يميز بينها بقابليتها للصبغ بطريقة جرام فأغلبها موجب لصبغة جرام ويأخذ اللون القرمزى مثل جنس *Staphylococcus* ، وقليل منها سالب لصبغة جرام ويأخذ اللون الوردى مثل جنس *Neisseria* & *Azotobacter* .

٢- الشكل العصوى : Cylinder ; Rod-shaped ، وأسمه العلمى Bacillus (والجمع Bacilli) .

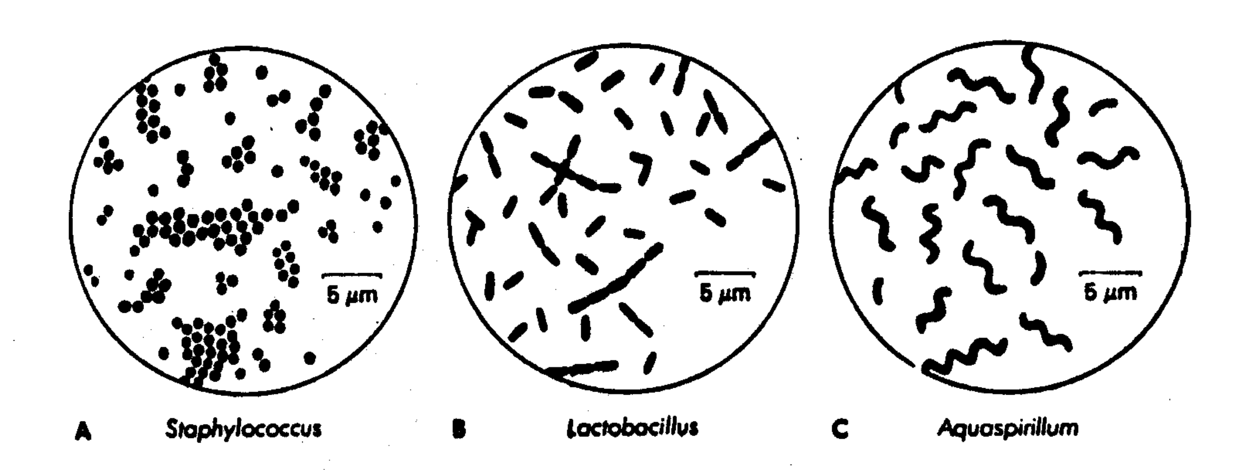
البكتريا العصوية لها طول وعرض ، ولذلك فهى تقسم الى

أ - عصوى قصير Short rods ، حيث يقرب طولها من عرضها ، مثل جنس *Escherichia* .

ب - عصوى طويل Long rods وهنا يبلغ طول الخلية من ٣ إلى ١٠ أضعاف عرضها ، مثل جنس *Bacillus & Lactobacillus* .

وقد يكون طرف خليـــة البكتريـــا العصويـــة مســـتويا Square cut ، أو مســـتديرا Rounded ، أو على شكل عصا الطبلة Club-shaped .

وقد تكون الخلية العصوية مســـتقيمة Straight ، أو مقوســـة أو منحنيـــة Curved ، مفردة Single ، أو فى سلاسل Chains ، ومنها المتجرثم، وغير المتجرثم ، ومنـــها الموجـــب والسالب لصبغة جرام



شكل ٥ (١) - ١ . الأشكال الرئيسية للبكتريا

A) كروى ، مفرد أو فى تجمعات أو فى عناقيـــد
B) عصوى ، مفرد أو فى سلاسل
C) حلزونـــــــى

٣- الشكل الحلزونى : Spiral ، واسمه العلمى Spirillum (والجمع Spirilla) للبكتريا الحلزونية شكلين

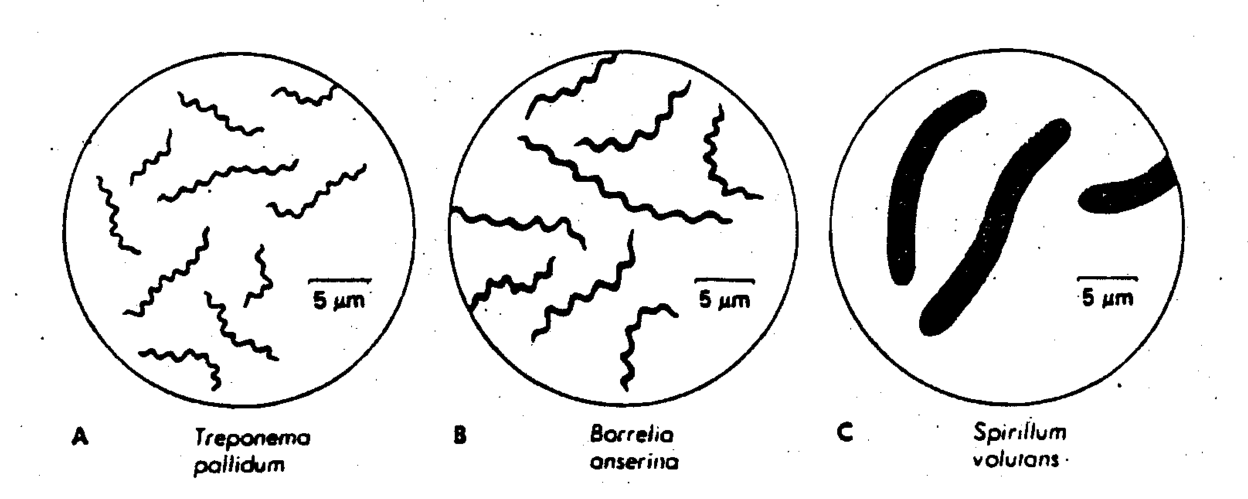
أ - الشكل الواوى Comma-shape ، وفى هذا الشكل تكون الخلية منحنيـــة Curved انحنـــاءه واحدة ، ويأخذ الانحناء أقل من لفة كاملة ، فتظهر الخلية على شكل حرف واو أو الضمة ، ومن أمثلة الشكل الواوى ، بكتريا الكوليرا *Vibrio cholerae* .

ب - الشكل البريمى كنازعة سدادة الفلين Cork-screw shape ، وفى هذا الشكل تكون الخليـــة منحنية بعدة إنحناءات ، وتأخذ الخلية شكل البريمة ، ومن أمثلتها جنس *Aquaspirillum*.

البكتريا الحلزونية الحقيقية (أ ، ب السابقة) ذات جدار صلب ، لذلك فإن خلاياها غـــير مرنة ، وهى مفردة ، سالبة لصبغة جرام ، وأعضاء الحركة ،وهى الأسواط ، توجد فى البكتريـا الواوية على قطب واحد من أقطاب الخلية ، فى حين توجد الأسواط فى البكتريا البريمية ، علـــى كلا القطبين بالخلية .

ومن حيث الشكل ، فإنه يضاف للبكتريا الحلزونية مجموعة ثالثة ، هى مجموعة الاسبيروكيتات Spirochaetes ، وهى بكتريا راقية (*) ، جدارها مرن ، بريمية الشكل ، أى أن خلاياها تحتوى على عدة إنحناءات ، والحركة بدون أسواط .

يختلف طول خلايا السبيروكيتا بإختلاف الأنواع ، ومن أمثلتها بكتريا *Treponema pallidum* [شكل ٥ (١) – ٢] .



شكل ٥ (١) – ٢ : بكتريا حلزونية

A,B : سبيروكيتات : وهى بكتريا راقية لخلايا مرنة

· لاحظ الفرق بين نوعى *Treponema & Borrelia* من حيث سمك الخلية ، وعدد انثناءاتها

C : حلزونيات ، وهى بكتريا حقيقية ، خلاياها ذات جدار صلب

الشكل الخيطى : Filaments

يوجد هذا الشكل فيما يعرف بالبكتريا الراقية Higher bacteria. ومن البكتريا ذات الشكل الخيطى

(*) بكتريا راقية Higher bacteria ، هى أنواع من البكتريا ، تجمع فى أشكالها وبعض صفاتها بين أنواع البكتريا الحقيقية كالكولاى ، وبين صفات بعض الكائنات الأخرى الأكثر رقياً ، كالفطريات والطحالب والبروتوزوا .

١- البكتريا الشبيهة بالفطر

تقع هذه البكتريا فى مجموعة الأكتينومايسيتات ، وتكوّن خلايا هذه البكتريا خيوطا (هيفاتا) متفرعة تشبه هيفات الفطر ، ولكن سمك خيوط هذه البكتريا رفيع جدا مقارنة بسمك هيفات الفطر ، حيث تماثل فى سمكها سمك خلية البكتريا ، كما أن بعضها يكون جراثيما لاجنسية يختلف نوعها من جنس لآخر ، ومن أمثلة هذه البكتريا ، تلك التابعة لجنس *Streptomyces* ، الذى تكون أفراده خيوطا متفرعة تحمل جراثيم كونيدية على أطراف الهيفات الهوائية .

٢- البكتريا المغلفة : Sheathed bacteria

تتميز هذه البكتريا بأنها تكون غلافا Sheath يحيط بسلسلة الخلايا أو بالترايكوم (*) ، معطيا لها المظهر الخيطى ، ويساعد الغلاف البكتريا على الالتصاق بالأسطح الصلبة ، وذلك كما فى أجناس *Leptothrix & Sphaerotilus* شكل [٥ (١) - ٣] .



شكل ٥ (١) - ٣ : ترايكومات بكتريا *Saprospira grandis* يتكون الترايكوم من خلايا اسطوانية ، طول الخلية من ١-٥ ميكرومتر ، والخلايا شديدة الالتصاق ببعضها ومكونة لسلسلة (× ١٦٥٠) .

٣- البكتريا التابعة لرتبة Beggiatoales

تكون هذه البكتريا سلاسل طويلة من الخلايا المتصلة ببعضها اتصالا وثيقا ، مكونة للخيط ، بحيث يظهر خيط الخلايا فى شكل ترايكوم .

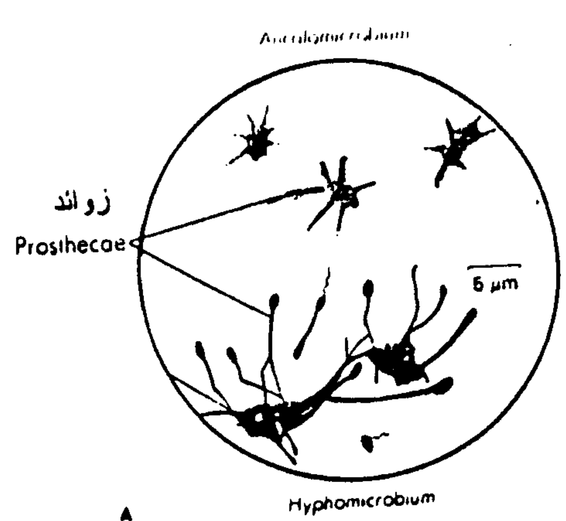
البكتريا ذات الزوائد : Bacteria with appendages

بالإضافة إلى الأشكال البكتيرية السابقة ، فإن بعض الأنواع البكتيرية تأخذ أشكالا خاصة ، مثالاً على ذلك البكتريا ذات الزوائد ، التى تعطى للخلايا شكلا مميزا .

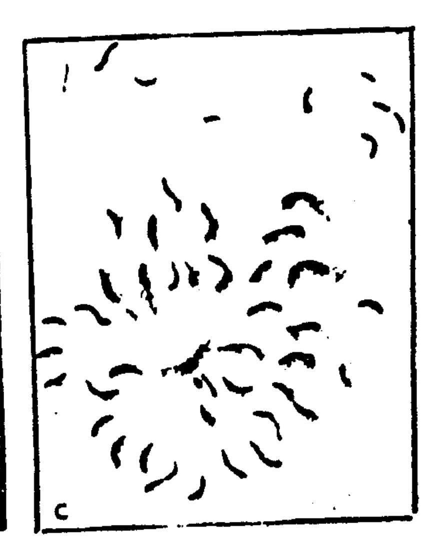
(*) الترايكوم Trichome سلسلة طويلة من الخلايا الثالوسية غير المتمايزة ، المتصلة بعضها اتصالاً وثيقاً ، أقوى مما بين الخلايا العصوية المكونة للسلاسل ، وبمساحات اتصال بين الخلايا كبير .

تكون هذه البكتريا زوائد Prosthecae ; Appendages؛ ، وهذه الزوائد عبارة عن إمتدادات خيطية نصف صلبة تمتد من جدار الخلية أو من غشائها السيتوبلازمى ، تساعد على لصق البكتريا بالسطوح أو إمتصاص المواد الغذائية .

فقد تكون بالبكتريا زائدة واحدة كما فى جنس *Caulobacter* ، أو تكون بالبكتريا أكثر من زائدة كما فى جنس *Ancalomicrobium* [شكل ٥ (١) - ٤] .







شكل ٥ (١) - ٤ :

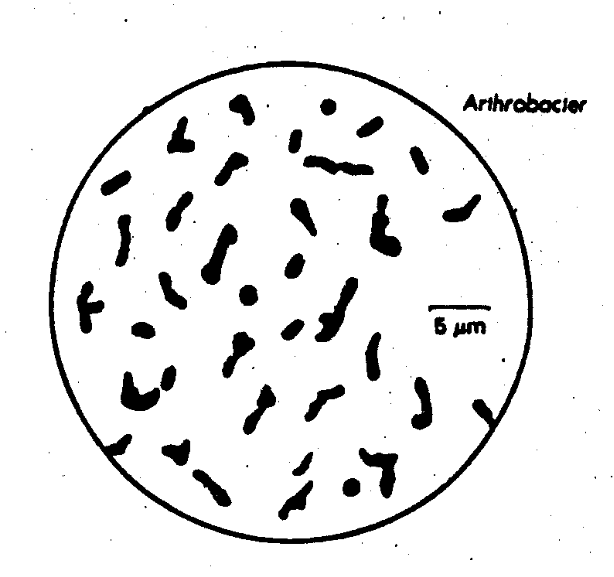
A - بكتريا *Hyphomicrobium* متبرعمة ، وذات زوائد ، بالخلية أكثر من زائدة .
B - بكتريا *Caulobacter* فى حالة انقسام ثنائى ، والخلية السفلى ذات زائدة واحدة Prostheca وتنتهى الزائدة بمثبت Hold fast (× ١٣٠٠٠) يلصق الخلية بالأسطح الصلبة .
C - خلايا *Caulobacter* ذات مثبت مشترك ، وتكون تجمعاً فى شكل وردة .

التغير فى شكل البكتريا : Pleomorphism in bacterial shape

خلايا البكتريا الحقيقية الحديثة العمر النشطة ، لها شكل مميز ثابت ، وذلك عندما تزرع فى بيئة وتحت ظروف مناسبة ، ولكن عند تغير الظروف البيئية فإن شكل البكتريا يتغير فيأخذ أشكالا غير منتظمة مثل الشكل الخيطى ، أو تحدث إستطالة فى الخلية ، أو انتفاخ بها ، أو تظهر الخلايا متفرعة ، لذلك فإنه عند وصف نوع من الأنواع البكتيرية ، فإنه يجب أن تثبت الظروف المحيطة بنموه ، حيث أن تغير هذه الظروف يغير من شكل وصفات البكتريا النامية ، كما يجب أن يكون الوصف لبكتريا حديثة العمر ، أى مأخوذة من مزارع حديثة ، وعمرها أقل من ٢٤ ساعة ، لأن الخلايا الحديثة العمر تحتفظ بشكلها وبصفاتها عن البكتريا المسنة .

يلاحظ التغير فى الشكل فى بعض أنواع البكتريا ، مثل *Arthrobacter globiformis* التى تظهر عصوية عندما تكون الظروف البيئية مناسبة ، ولكن فى المزارع المسنة التى نفـذت منها المواد الغذائية أو تعرضت للجفاف ، فإن الخلايا تصبح ذات أشكال متغايرة وتعرف هـــذه البكتريا بأنها بكتريا متغايرة الشكل Pleomorphic bacteria [شكل ٥ (١) - ٥] .

إضافة إلى ذلك فإن بعض أنواع البكتريا تظهر تغيراً فى شكلها كصفة وراثية ، عندمـا تمر بمرحلة من مراحل دورة حياتها ، وذلك كما يحدث فى طور البكتيرويد لبكتريا الرايزوبيـــا أثناء معيشتها بالعقد الجذرية ، حيث تأخذ الخلايا البكتيرية أشكال حروف الهجاء TLYXV بدلا من الشكل العصوى .



شـــكل ٥ (١) - ٥ : بكتريـــــا *Arthrobacter* متغايرة الأشكال

تجمع الخلايا البكتيرية

عندما تنقسم الخلية البكتيرية ، فإن الخليتين الناتجتين من الانقسام ، إما أن ينفصلا عــن بعضهما أو تبقيا ملتصقتين ، فالخلايا التى لها طبقة هلامية تامة النمو أو غلاف ، فإنها تميل إلى الالتصاق ببعضها ، أما الخلايا ذات الغلاف الرقيق فإنها تبقى عادة منفردة .

وتجمعات الخلايا البكتيرية المتكونة نتيجة الانقسام ، تكون ثابتة ومتماثلة فى كثير مــن الأنواع ، لدرجة أن نظام تجمع الخلايا البكتيرية يستعمل كدليل له أهميته ، لتمييز الأنواع عـــن بعضها ، ورغم وجود خلية البكتريا فى تجمع ، إلا أن كل خلية داخل التجمع ، تعمـــل ككـــائن مستقل .

أشكال التجمعات : Types of arrangement

أ- الخلايا الكروية

تنقسم الخلية الكروية فى مستويات مختلفة ، تعتمد على النوع أو الجنس ، مما يعطـــى للخلايا الكروية نظما مختلفة من التجمعات [شكل ٥ (١) - ٦] ، هى

A. Diplococci

B. Streptococci

C. Tetrads

D. Staphylococci

E. Sarcinae

شكل ٥ (١) - ٦ : أشكال توضيحية لنظم تجمعات الخلايا البكتيرية الكروية ، مع توضيح لنظام التكاثر

A - تجمع فى أزواج Diplococci
B - تجمع فى سلاسل Streptococci
C - تجمع فى رباعيات Tetrads
D - تجمع فى عناقيد Staphylococci
E - تجمع فى مكعبات Sarcinae

١- تجمع الكرويات فى أزواج Pairs, Diplococci

يحدث هذا النظام من التجمع عندما تنقسم الخلية الكروية على أحد المحاور إلى خليتين ، وتظل الخليتين ملتصقتين ببعضهما ، وعند الانقسام التالى تنفصل كل خليتين مع بعضهما ، فتظهر الخلايا فى أزواج ، وتكون الخلايا عند مكان الاتصال مفلطحة Flattened أو منحنية قليلا على شكل الكلية ، ومن أمثلة البكتريا الكروية التى توجد فى أزواج *Neisseria meningitidis & Streptococcus pneumoniae* .

٢- تجمع الكرويات فى شكل السلسلة أو السبحة : Chain, Streptococci

يحدث ذلك التجمع ، إذا إنقسمت الخلية الكروية على محور واحد ، مع استمرار الانقسام فى نفس هذا المحور ، وتبقى الخلايا متصلة ببعضها مكونة لسلسلة Chain ، أو سبحة، أو خيط .

يعتبر طول السلسلة من الصفات المميزة للنوع ، فقد يكون التجمع فى سلسلة قصيرة كما فى بكتريا *Lactococcus lactis* ، أو فى سلسلة طويلة كما فى بكتريا *Streptococcus agalactiae* .

٣- تجمع الكرويات فى رباعيات : Tetrads, Tetracocci

يحدث ذلك التجمع إذا إنقسمت الخلية الكروية فى محور واحد الى خليتين ، وهذان ينقسمان بدورهما فى الانقسام التالى فى محور عمودى على المحور السابق ، فتتكون مجموعة من أربعة خلايا Tetrad مكونة لتجمع رباعى Tetracoccus ، وذلك كما فى بكتريا *Pediococcus* .

٤- تجمع الكرويات فى مكعبات : Cubic , Sarcinae

يحدث ذلك التجمع إذا انقسمت الخلية الكروية فى محاور مختلفة ، فتنقسم الخلية فى الانقسام الأول إلى خليتين ، وتنقسم الخلايا فى الانقسام الثانى فى محور عمودى على المحور السابق ، وفى الانقسام الثالث ، تنقسم الخلايا عموديا على المحورين السابقين ، وبذلك يتكون تجمعا من ثمانى خلايا كروية على شكل مكعب Cubic packet ، كما فى جنس *Sarcina* .

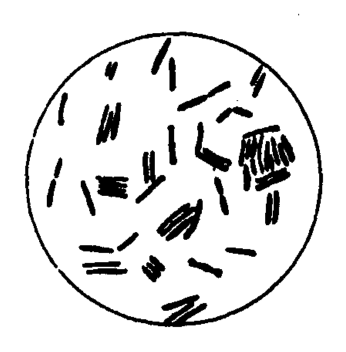
٥- تجمع الكرويات فى عناقيد : Cluster, Staphylococci

يحدث ذلك التجمع عندما تنقسم الخلية الكروية فى محاور مختلفة ، فيتكون تجمعا من الخلايا يشبه عنقود العنب ، مثل بكتريا *Staphylococcus aureus* .

ب - الخلايا العصوية

تنقسم الخلايا العصوية فى مستوى واحد فقط ، وهو المستوى العمودى على المحور الطولى للخلية . والخلايا الناتجة من الانقسام ، قد تبقى منفردة ، كما فى *Escherichia coli* ، أو تتصل فتكون أزواجا Diplobacillus ، أو تكون سلسلة من الخلايا كما فى *Bacillus subtilis* ، أو تكون خيوط كما فى جنس *Nocardia* .

قد تتجمع الخلايا العصوية الناتجة من الانقسام فى شكل متوازى وفى زوايا حادة ، مكونة شكل الحروف الصينية كما فى بكتريا *Corynebacterium diphtheriae* [شكل ٥ (١) - ٧] ويعرف هذا التجمع ، بالتجمع السياجى* Palisade arrangement .



شكل ٥ (١) - ٧ :
خلايا بكتريا *Corynebacterium*
عصوية الشكل وفى تجمع سياجى
Palisade arrangement*
١٠٠٠ ×

* أنظر تذييل ص ٤١٠

المستعمرة البكتيرية : Bacterial colony

إذا نمت خلية بكتيرية فى بيئة صلبة أو نصف صلبة ، فإنها تكون مجموعة من الخلايا البكتيرية تسمى مستعمرة Colony . وتمثل المستعمرة كتلة من الخلايا البكتيرية المنفردة ، عددها ملايين الملايين من الخلايا ، ويمكن رؤيتها بالعين المجردة ، وتسمى المستعمرة بمستعمرة سطحية Surface colony ، إذا ماوجدت المستعمرة على سطح البيئة ، أما إذا كانت المستعمرة تقع بداخل الأجار ، فإنها تسمى مستعمرة تحت سطحية Subsurface أو مستعمرة متعمقة deep colony ، والمستعمرات المتعمقة خلاياها أكثر إندماجاً من خلايا المزرعة السطحية .

قد تنشأ المستعمرة من خلية بكتيرية واحدة ، أو من جرثومة بكتيرية واحدة ، أو من مجموعة من الخلايا البكتيرية . وغالبا فان كل نوع من البكتريا ، يكون مستعمراتا ذات شكل وتركيب وخصائص [1]، [2] خاصة بها ، وتحت ظروف بيئية متشابهة ، فإن مستعمرات النوع الواحد من البكتريا ، تكون متماثلة فى الشكل والتركيب والصفات ، وهذا يساعد على تمييز أنواع البكتريا عن بعضها البعض واضعين فى الاعتبار ، بأنه اذا ماتغيرت ظروف النمو البيئية ، فقد تتأثر صفات المستعمرة البكتيرية النامية .

حركة البكتريا : Bacterial motility

بعض أنواع البكتريا ، مثل معظم الأنواع العصوية والحلزونية ، قادرة على الحركة ، بينما نجد أن معظم الأنواع الكروية غير متحركة .

وتنتقل البكتريا المتحركة بقوتها الذاتية من موقع لآخر ، أى أنها تتحرك حركة حقيقية وفى ذلك فإن حركة البكتريا تختلف عن حركة الأجسام الصغيرة المسماه بالحركة البراونية ، التى تحدث نتيجة تصادم الجزيئات الدقيقة الموجودة فى المحلول ببعضها ، أو بتأثير التيارات التى تتولد فى السائل .

أنواع حركة البكتريا

تتم حركة البكتريا بوسائل متعددة منها

*** الحركة السابحة Swimming motility**

تعتبر هذه الوسيلة ، هى الوسيلة الرئيسية لحركة أنواع البكتريا الحقيقية التى توجد بالسوائل ، وتتم هذه الحركة بتركيبات خاصة توجد بالخلية البكتيرية تسمى أسواط Flagella (ومفردها سوط Flagellum) ، وتوجد الأسواط بكثرة فى البكتريا العصوية والحلزونية ، وبقلة فى

---

(١) خصائص المستعمرة البكتيرية Colony characteristics ، هى مجموعة من الصفات التى تميز المستعمرات البكتيرية عن بعضها ، وتشمل هذه الصفات شكل وحجم وارتفاع وتركيب وقوام ولون ورائحة المستعمرة البكتيرية ، النامية بالأطباق على بيئة صلبة .

(٢) أنظر المستعمرات المندفعة ص ١٨٨ .

البكتريا الكروية ، ويمكن مشـــاهدة هــذه الحركــة فــى تحضــيرات النقطــة المعلقــة[1] Hanging drop technique .

* الحركة الزاحفة : Gliding motility

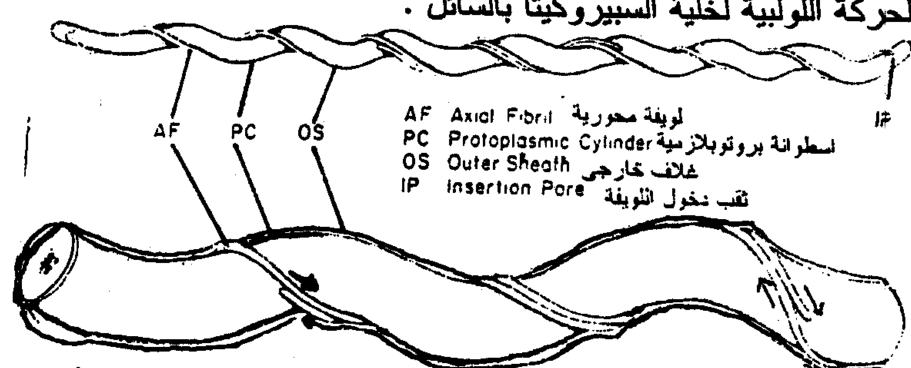
يوجد هذا النوع من التحرك فى البكتريا الخالية من الأسواط ، مثـــل بكتريـــا الســيانوبكتريا وبكتريا السايتوفاجا والبكتريا اللزجة . وتتم هذه الحركة زحفـــا علـــى الأســطح الصلبـــة ، وتتحرك البكتريا نتيجة إفراز الخلية لمواد لزجة عديدة التسكر فى الاتجـــاه الأمـــامى للخليـــة يجعلها تنقبض على السطح الموجودة عليه ، محدثة تموجات وتذبذبات فـــى جســم الخليـــة البكتيرية نفسها ، فتندفع للأمام .

والحركة الزاحفة حركة بطيئة إذا ماقورنت بالحركة السابحة أو الحركة اللولبية ، فهى لاتزيـد عن بضعة ميكرومترات فى الثانية (من ٢ الى ٥ ميكرومتر/ثانية) .

* الحركة اللولبية (البريمية) : Rotatory motility

توجد هذه الحركة فى بكتريا السبيروكيتا Spirochaetes ، وهى بكتريـــا حلزونيـــة ، جدارها مرن ، وخالية من الأسواط الخارجية ، وتتم هذه الحركة البريمية فى السوائل ، وذلـــك بواسطة لويفات محورية Axial fibrils ، والتى قـــد تســـمى أيضـــا بالأســـواط البريبلازميـــة Periplasmic flagella ، أو بالأسواط الداخلية Endoflagella ، لوجودها بداخل الخليـــة فـــى البريبلازم .

تقع هذه اللويفات فى الفراغ البريبلازمى للخلية ، [شكل ٥ (١) – ٨] أى بين الغشـــاء الخارجى المرن لجدار خلية السبيروكيتا ، وبين الغشاء السيتوبلازمى ، وتلتـــف اللويفـــة حـــول البروتوبلاست ، وتتشابه فى تركيبها ، مع تركيب أسواط البكتريا الحقيقية ، من حيـــث وجـــود الجسم القاعدى Basal body والحلقات Rings ، ويؤدى التواءات هذه اللويفات ، إلـــى حـــدوث الحركة اللولبية لخلية السبيروكيتا بالسائل .



شكل ٥ (١) – ٨: رسم توضيحى لمكونات خلية السبيروكيتا ، كما تبدو بالمجهر الالكترونى .

---

(١) تقنية النقطة المعلقة Hanging drop technique

طريقة معملية تستخدم لفحص حركة البكتريا الحية الموجودة فى مزرعة سائلة ، باستخدام شـــريحة زجاجيـــة ذات تجويف

الأسواط ، الفلاجلات : Flagella (المفرد Flagellum)

الأسواط هى وسيلة الحركة السابحة ، للبكتريا الحقيقية (أى البكتريا ذات الجدار الصلب) الموجودة بالسوائل ، كما أن الأسواط وسيلة الحركة أيضا فى كثير من الكائنات الدقيقة حقيقية النواة مثل البروتوزوا السوطية ، وبعض الجراثيم الفطرية المتحركة ، وعدد من الطحالب مثل الكلاميدوموناس .

ويمكن مشاهدة الأسواط البكتيرية بالمجهر الالكترونى ، أو بالمجهر الضوئى مع استخدام طرق خاصة بالصبغ ، تتضمن ترسيب مادة شفافة على الأسواط ، تزيد من سمكها بدرجة تسمح برؤيتها بعد الصبغ ، وعادة مايستعمل لذلك الغرض مرسخ كحامض التانيك مع بعض الأملاح المعدنية .

ورغم أن الأسواط وسيلة الحركة بالبكتريا ، كما أنها ميزة من مميزات النوع ، إلا أنها ليست ضرورية لحياة البكتريا أو لتكاثرها ، فيؤدى فقدها الى توقف الحركة ، دون أن يتأثر النمو .

طبيعة الأسواط

الأسواط عبارة عن خيوط رقيقة ورفيعة جدا ، تنشأ من داخل الخلية البكتيرية ، من جسيم حبيبى دقيق ، يسمى بليفاروبلاست Blepharoplast ، قطره حوالى ٠,٢ ميكرومتر ، ويقع مابين الجدار الخلوى والغشاء السيتوبلازمى ، ويمتد السوط من داخل الخلية المكونة له ، ويمر فى الجدار ويبرز إلى خارج الخلية .

وسمك الأسواط البكتيرية أرفع بكثير من سمك أسواط خلايا حقيقيات النواة ، كما أنها أبسط منها فى التركيب ، ويتراوح سمك الأسواط البكتيرية مابين ٠,٠١ إلى ٠,٠٢ ميكرومتر ، أما أطوالها فإنها تكون أطول عدة مرات من طول الخلية الخارجة منها ، وعادة مايتراوح طول السوط مابين ٦ إلى ٢٠ ميكرومتر ، وقد يصل طول السوط فى بعض أنواع البكتريا الحلزونية إلى ٩٠ ميكرومتر .

وأوضحت التحضيرات الحية ، أن الأسواط نادراً ماتكون مستقيمة ، بل هى عادة حلزونية أو ملتوية ، ويختلف شكل وطول الالتفافات من نوع لآخر ، ولكنها صفات ثابتة بالنسبة لأفراد النوع الواحد .

تركيب الأسواط :

يختلف تركيب أسواط البكتريا اختلافا بينا عن تركيب أسواط خلايا حقيقيات النواة . فأسواط حقيقيات النواه أكثر سمكا ، وأكثر تعقيداً فى التركيب ، إذ يتكون سوط حقيقيات النواة من مجموعة من اللويفات الدقيقة (أنيبيات Microtubules ، هى عبارة عن زوج لويفات بالوسط ، يحيط به تسعة أزواج ، والجميع محاط بغشاء ، هو إمتداد للغشاء السيتوبلازمى للخلية) .

أما أسواط البكتريا ، فإنها أرفع كثيرا ، ويتكون السوط من ثلاث لويفات دقيقة ، وقد يزيد عن ذلك قليلا في بعض أنواع البكتريا ، وتلتوى اللويفات أو تلتف معا لتكون حلزون حول مركز أجوف ، يكون قناة مفتوحة خلال طول السوط ؛ وليس لأسواط البكتريا غلاف خارجي ، وإن كان قد يحاط السوط فى بعض أنواع البكتريا السالبة لصبغة جرام ، بغلاف ، هو إمتداد من الغلاف الخارجي (الجدار الخلوى) للخلية .

تتركب أسواط البكتريا من بروتين ليفى ، ذو وزن جزيئى منخفض (حوالى ٤٠ ألف دالتون) ، يسمى فلاجيللين Flagellin ، ويختلف الفلاجيللين فى مكوناته حسب النوع أو السلالة البكتيرية ، كما أن فلاجيللين الأسواط ، يختلف فى التركيب عن بروتين الخلية البكتيرية العادى فى إحتواء فلاجيللين الأسواط على كميات أقل من الأحماض الأمينية الكبريتية (مثل السيستين) والأحماض الأمينية الحلقية (مثل التربتوفان) ، وفى إحتوائه على نسبة عالية من حامض الاسبارتيك وحامض الجلوتاميك .

وللأسواط البكتيرية خواص أنتجينية كما ظهر من الدراسات المناعية ، ويطلق على أنتجين الأسواط H-antigen(*) ، ويطلق على أنتجين جسم الخلية O-antigen (*)، وتستخدم هذه الخواص الأنتجينية فى التمييز السيرولوجى بين السلالات البكتيرية التابعة للنوع الواحد ، مثل سلالات بكتريا *Salmonella typhi* .

مكونات السوط

يتكون سوط البكتريا من ثلاثة أجزاء [شكل ٥ (١) - ٩] .

أ - الجسم القاعدى : Basal body

يربط الجسم القاعدى خيط السوط والخطاف بالغشاء السيتوبلازمى للخلية ، والجسم القاعدى بروتينى التركيب ويختلف فى تركيبه عن تركيب الفلاجيللين ، ويتكون الجسم القاعدى فى البكتريا السالبة لصبغة جرام ، من زوجين من الحلقات Two pairs of Rings ، يتصلان بساق Stem ، ويقع زوج الحلقات الخارجى (L & P) قرب الجدار الخلوى للخلية ، بينما يقع زوج الحلقات الداخلى (S & M) قرب الغشاء السيتوبلازمى ، ويتركب الجسم القاعدى فى

(*) H & O-antigens

- يشير رمز H الى المصطلح الألمانى Hauch الذى يعنى ضباب ، مشيرا الى أن للبكتريا أسواطا ، تتحرك بها فوق سطح البيئة الصلبة مكونة غشاء رقيقا كالضباب .

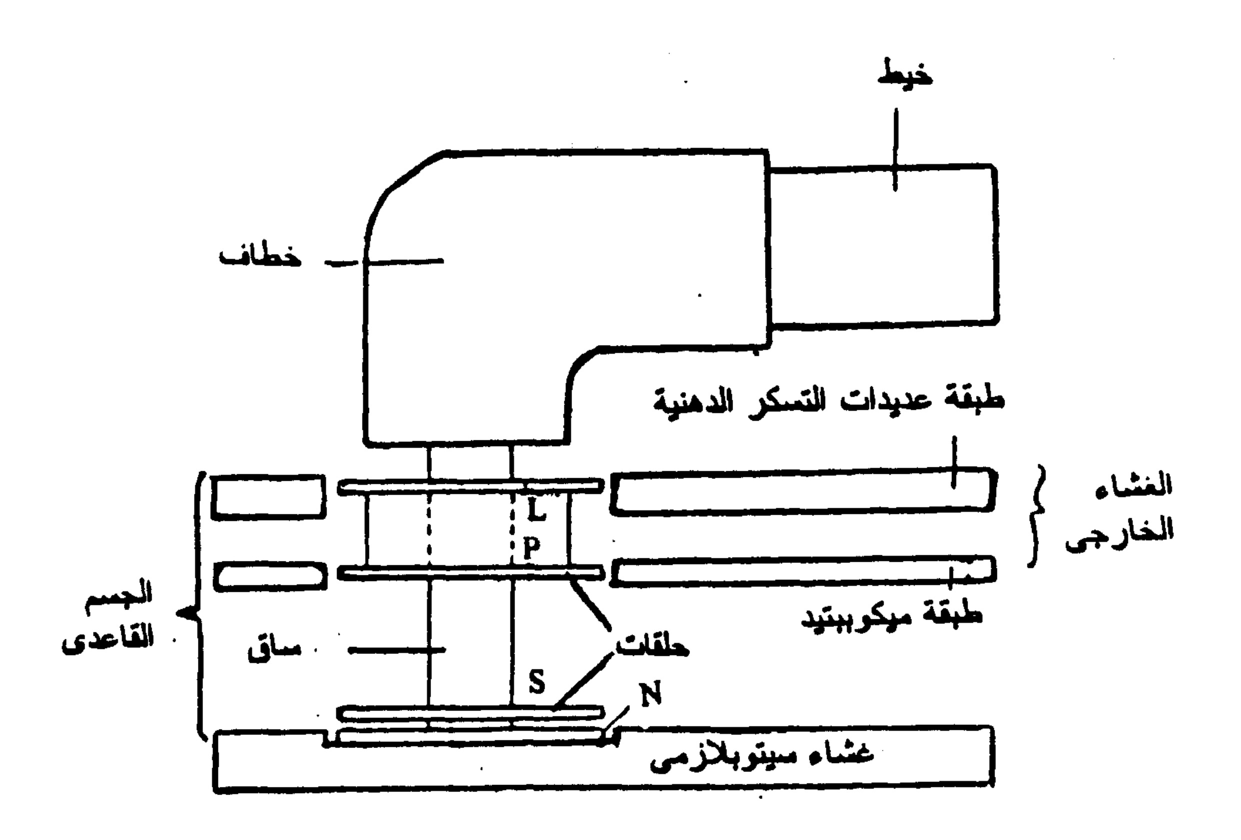
ويعنى H-antigen أن الأنتجين ينتج من أسواط الخلية البكتيرية .

- ويشير رمز O إلى المصطلح الألمانى Ohne hauch الذى يعنى بدون ضباب ، مشيرا إلى أن البكتريا غير متحركة ، وبالتالى لاتكون غشاءا رقيقا كالضباب على سطح البيئة الصلبة .

ويعنى O-antigen أن الأنتجين ينتج من جسد الخلية البكتيرية وليس من اسواطها ، لأنها بدون أسواط .

- بعض الأنواع البكتيرية المتحركة كالتابعة لجنس اشريشيا وسالمونيلا ، تفتح النوعين من الانتجينات : H من الأسواط و O من جسد الخلية .

البكتريا الموجبة لصبغة جرام من زوج واحد من الحلقات . ويمثل الجسم القاعدى القوة المحركة للسوط ، إذ تعمل زوج الحلقات الداخلية على تحريك السوط .



شكل ٥ (١) - ٩ : رسم تخطيطى يبين تركيب السوط فى بكتريا *E coli* .

ب - الخطاف (الماسك) : Hook

الخطاف بروتينى التركيب منحنى الشكل ، يربط الجسم القاعدى بخيط السوط .

جـ - خيط السوط : Flament

الخيط حلزونى الشكل ، يتركب من الفلاجيللين ، وبه قناة مفتوحة تمتد بطول الخيط ، ويصل فى طوله لعدة أضعاف طول الخلية .

نمو السوط

ينمو السوط ويستطيل ، بطريقة تخالف نمو الشعره مثلا ، فالسوط لاينمو من القاعدة ولكن ينمو من الطرف ، إذ أن وحدات جزيئات الفلاجيللين المخلقة داخل خلية البكتريا ، تمر

من خلال تجويف وسطى بمركز السوط ، إلى نهايته ، حيث تضاف وحدات الفلاجيللين لطرف السوط لزيادة طوله ، ويستمر السوط فى البناء حتى يصل إلى طوله المحدد ثم يتوقف ، ولكن إذا حدث وقطع السوط ، فإنه يعاد بنائه ثانية حتى يصل إلى طوله المحدد .

وعندما تنقسم الخلية البكتيرية ، فإن الخلايا المتكونه لابد وأن تحتوى على نفس العدد من الأسواط الذى كان موجودا بالخلية الأم ، فإذا كان للبكتريا سوط طرفى واحد ، فإن السوط الجديد يتكون فى المنطقة التى يتم عندها إنقسام الخلية إلى خليتين ، أما إذا كانت البكتريا من ذوات الأسواط المحيطية ، فإن أسواط خلية الأم تتوزع بالتساوى بين الخليتين البنويتين ، ثم تتكون أسواطا جديدة بكل خلية بنوية لاستكمال عدد الأسواط .

قد تفقد الخلية البكتيرية أسواطها نتيجة الرج الميكانيكى أو الطرد المركزى أو الترشيح ، أو بتأثير بعض المنظفات والمواد المطهرة مثل الفينول والبورات ، أو لوجودها فى ظروف بيئية غير ملائمة ، إلا أنه عندما تتحسن الظروف ، فإن الخلايا الجديدة المتكونة يكون لها أسواط .

توزيع الأسواط

يعتبر عدد الأسواط ونظام توزيعها بالخلية البكتيرية ، من الصفات المميزة للنوع الواحد ، وإن كان يختلف ذلك من نوع بكتيرى لآخر [شكل ٥ (١) - ١٠] .

ومن حيث توزيع الأسواط على الخلية البكتيرية ، فإن البكتريا تقسم إلى

١- عديمة الأسواط ، Atrichous

ومثلها *Lactobacillus & Staphylococcus* .

٢- ذات سوط طرفى واحد ، Monotrichous

قد يقع هذا السوط بأحد أقطاب الخلية ويسمى قطبى Polar ، ومثلها *Pseudomonas aeruginosa & Vibrio cholerae* ، أو قد يقع بأحد جوانبها ، ويسمى جانبى Lateral .

٣- ذات خصلة من الأسواط ، Lophotrichous

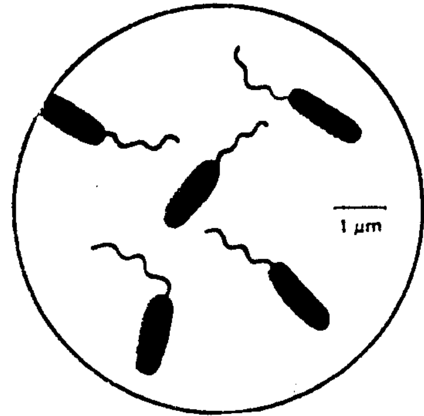
قد توجد الخصلة فى أحد أطراف الخلية ، ومثلها *Alcaligenes viscolactis* ، أو توجد الخصلة فى جوانب الخلية ، ومثلها *Selenomonas* .

٤- ذات خصلة من الأسواط على كل طرف من أطراف الخلية ، Amphitrichous .

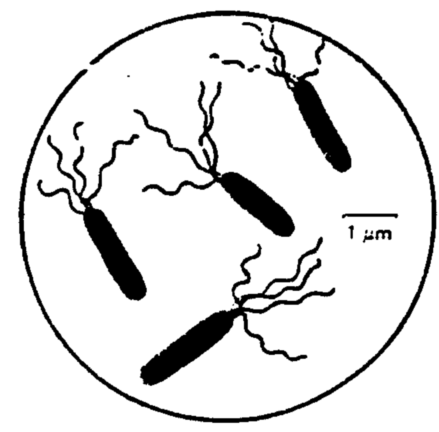
ومثلها *Aquaspirillum serpens & Spirillum volutans* .

٥- ذات أسواط محيطية ، أى موزعة على مدار محيط الخلية ، **Peritrichous** .

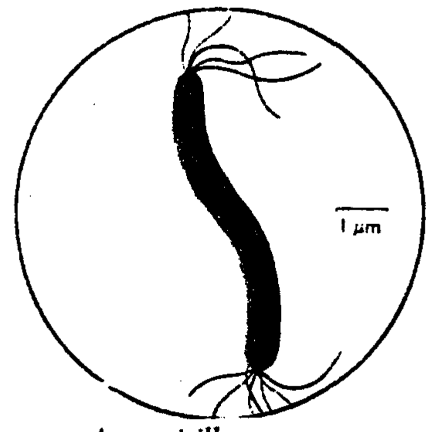
ومثلها *B. subtilis, E. coli & Salmonella typhi* .



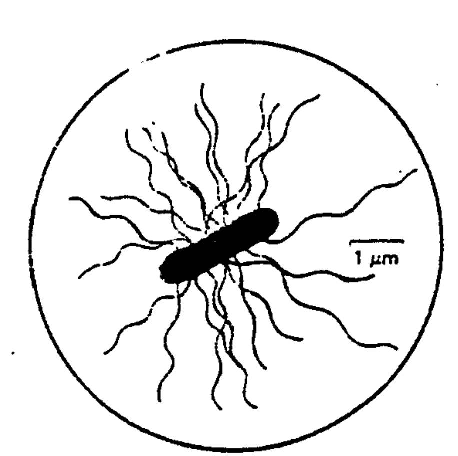
A *Pseudomonas aeruginosa*



B *Pseudomonas fluorescens*



C *Aquaspirillum serpens*



D *Salmonella typhi*

شكل ٥ (١) – ١٠ : أشكال توضيحية لتوزيع الأسواط على الخلايا البكتيرية
A : خلايا ذات سوط طرفى واحد .... Monotrichous
B : خلايا ذات خصلة من الأسواط فى طرف واحد Lophotrichous
C : خلية ذات خصلة من الأسواط فى طرفى الخلية Amphitrichous
D : خلية ذات أسواط محيطية........................ Peritrichous

ميكانيكية الحركة بالأسواط :

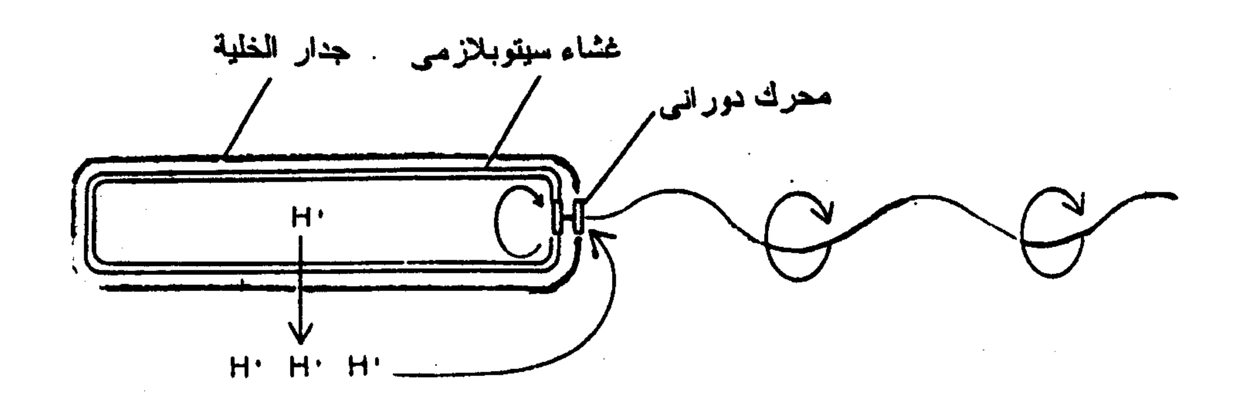
يعتبر وجود الجدار الخلوى ضروريا لحركة البكتريا ، لأن الخلايا المتحركة المعاملة باللايسوزيم ، تكون عبارة عن بروتوبلاست يحمل أسواطا ، ورغم ذلك فإنها تكون غير قادرة على الحركة لفقدها للجدار الخلوى .

ويمكن تشبيه حركة الأسواط البكتيرية ، بدوران مروحة رفاص السفينة ، حيث تتحرك الأسواط حركة دائرية مسببة تحريك جزيئات السائل المعلقة به البكتريا ، مما يؤدى إلى حركة الخلية فى الإتجاه العكسى ، ويحكم هذه الحركة الدائرية الجسم القاعدى ومابه من حلقات ، وتحت الظروف المثالية ، فإن الخلية تتحرك بسرعة تصل من ٥٠ إلى ٢٠٠ ميكرومتر فى

الثانيـــة . ورغم أن هذه السرعة تعتبر ضئيلة مقارنة مع سرعة الكائنات الأخرى ، إلا أنه يجب أن ينظر إلى هذه السرعة على أساس نسبتها الى طول الخلية ، وعلى هذا الأساس فإن ســـرعة البكتريا التى تتحرك بمعدل ٥٠ ميكرومتر/ثانية ، تعادل سرعة إنســـان يتحـرك بمعـدل ٢٠٠ كم/ساعة .

وتتوقف سرعة التحرك على الظروف البيئية ، وعلى نظام توزيع الأســـواط بالخليـة البكتيرية . ففى حالة البكتريا ذات الأسواط المحيطية ، فإن البكتريا تتحرك وفى نفـس الوقـت تدور ، وذلك فى خط مستقيم ، ولذلك تكون حركتها بطيئة (حوالى ٣٠ ميكرومتر/ثانية) ، أمـا فى حالة البكتريا ذات السوط الواحد الطرفى ، فإن البكتريا تلف بدوران مغزلى مع اندفاع للأمام ولذلك تكون حركتها سريعة (حوالى ٦٠ ميكرومتر/ثانية) .

الطاقة اللازمة لتحريك الأسواط البكتيرية لاتأتى من ATP كما فى حالة خلايا حقيقيات النواة ، لأن فلاجيللين الأسواط البكتيرى لايحتوى على إنزيم ATP ase ، ولكن تأتى الطاقـــة ، من القوة الدافعة للبروتون Proton motive force ، (أى من القوة المستمدة من فرق الجـــهد الكهربى Electric potential ، ومن الانحدار الايدروجينى Hydrogen gradient ، الذى يحدث عبر الغشاء السيتوبلازمى للخلية) ، إذ يؤدى تدفق البروتونات خلال حلقـات الجسـم القـاعدى للسـوط ، الـــى دوران تلـك الحلقـات ، وتحريـك السـوط لحركـة دائريـة [شكل ٥ (١) - ١١] .



شكل ٥ (١) - ١١ : تحرك السوط البكتيرى بواسطة القوة الدافعة للـــبروتون ، حيـث يـؤدى تدفـق البروتونات ، وهى راجعة الى الخلية ، خلال حلقات الجسم القاعدى للسوط البكتيرى ، الى دوران السوط ، وتعمل حلقـات الجسـم القـاعدى للسـوط كمحـرك دورانـى Rotary motor .

تأثر الحركة البكتيرية بالاستجابات التكتيكية : Tactic responses

تتأثر حركة البكتريا فى توجهها من مكان لاخر ، باستجابتها للمؤثرات التكتيكية التى تحدث بالوسط الموجودة به . قد يكون التأثر من مواد كيميائية ويسمى استجابة كيميائية Chemotaxis ، أو يكون التأثر بسبب الضوء ويسمى استجابة ضوئية Phototaxis ، أو بسبب الأكسجين (الهواء الجوى) ويسمى إستجابة هوائية Aerotaxis ، أو بسبب مجال مغناطيسى ويسمى استجابة مغناطيسية Magnetotaxis .

ويعتبر التوجه موجبا ، إذا كانت حركة البكتريا بالإتجاه نحو المؤثر ، ويعتبر التوجه سالباً ، اذا كانت الحركة بالإبتعاد عن المؤثر .

الاستجابة الكيميائية : Chemotactic response

تعزى الاستجابة الكيميائية فى حركة البكتريا ، لوجود مواد كيميائية بالوسط ، وتكون الاستجابة موجبة ، بمعنى أن البكتريا تتحرك تجاه المواد الكيميائية المؤثرة ، إذا ماكانت تلك المواد ذات فائدة للبكتريا ، وتكون الاستجابة سالبة بمعنى أن البكتريا تتحرك بعيداً عن المواد الكيميائية المؤثرة ، إذا ماكانت تلك المواد غير لازمة أو ضارة بالبكتريا .

مثالاً على ذلك ، فقد وجد فى حالة البكتريا ذات الأسواط المحيطية مثل *E. coli* ، بأنه عندما تميل هذه البكتريا للتحرك إلى الأمام ، كاستجابة موجبة للمؤثر ، فإنها تُجمّع أسواطها فى إتجاه عكس الاتجاه المطلوب للحركة ، ثم تدور مجموعة الأسواط مع بعضها فى إتجاه عكس عقارب الساعة ، فتندفع الخلية البكتيرية للأمام ، بحركة موجهة ، تجاه المؤثر .

أما البكتريا *E. coli* التى لاتستجيب للمؤثر ، فان أسواطها لاتتجمع ، وتدور أسواطها فى إتجاه عقارب الساعة ، وبذلك تتحرك الخلية حركة عشوائية غير موجهة .

وتحدث الاستجابة الكيميائية فى حركة البكتريا ، لوجود نوع من الأحساس الكيميائى لخلية البكتريا نحو المؤثر ، يؤدى إلى تحكم البكتريا فى توجيه حركة أسواطها . فقد بينت الدراسات الوراثية والبيوكيميائية ، أن أسطح الخلايا البكتيرية تحتوى على مستقبلات كيميائية Chemoreceptors ، تستجيب للمادة الكيميائية المؤثرة ، وهذه المستقبلات عبارة عن بروتينات، لها القدرة على الإتحاد المتخصص مع المواد الكيميائية المؤثرة عليها .

وهذا التخصص ليس مطلقا ، حيث أن البروتينات المستقبلة لسكر الجالاكتوز مثلاً ، تتأثر أيضا بالجلوكوز والفركتوز ، وتلعب البروتينات المستقبلة دورا فى دخول تلك المواد الكيميائية إلى داخل الخلية البكتيرية .

قد تؤثر الاستجابة الكيميائية فى حركة البكتريا ، على شكل النمو البكتيرى الموجود على أطباق بيئة الأجار ، فإذا مالقحت بكتريا *E. coli* مثلاً فى وسط طبق بترى ، فإنه بعد فترة من النمو ، تستهلك الخلايا البكتيرية النامية المواد الغذائية الموجودة بوسط الطبق ، وتتحرك الخلايا بتأثير الاستجابة الكيميائية ، للخارج نحو التركيز الأعلى للمواد الغذائية ، وتنمو مكونة حلقة من النمو الجديد ، وتتكرر حلقات النمو بالطبق ، بتكرر حركة البكتريا للاستجابة

الكيميائيـــة ، وتسمى المستعمرات البكتيرية الناتجة بالمســتعمرات المندفعـــة أو بالمســتعمرات المنتشرة Spreading colonies; Swarming colonies .

وقد تتكون المستعمرات المندفعة بتأثير الاستجابة الكيميائية ، بطريقة أكثر تعقيداً ممـــا سبق ، وذلك كما فى حالة بكتريا *Proteus vulgaris* السريعة الحركـــة ، إذ يــؤدى اســتهلاك البكتريا النامية للمواد الغذائية بطبق بترى ، إلى حدوث تغير فـــى حجـم الخلايـــا البكتيريـــة ، فتتحول من خلايا قصيرة عليها عدد محدود من الأسواط ، الى خلايا طويلة عديد ة الأســواط ، أسر ع فى الحركة كثيرا ، وهذه تتحرك كاستجابة كيميائية من المنطقة التى استهلك فيها الغــذاء ، الى منطقة يتوفر بها الغذاء ، وهنا تتكون خلايا عادية أقل حركة وتنمو مكونة حلقة نمو جديدة ، وبعد استهلاك الغذاء فى الموضع الجديد ، تتكون خلايا مندفعة جديدة تندفع إلى موقع جديـــــد ، مكونة حلقة نمو جديدة ، ويتكرر تكون حلقات النمو على بيئة الاجار ، بتكرر حركة البكتريا .

الاستجابة الضوئية : Phototactic response

تعتمد البكتريا الممثلة للضوء ، مثل البكتريا الارجوانية *Chromatium* ، على الضـــوء كمصدر لما تحتاجه من طاقة ، ولذلك فإن أمثال هذه البكتريا تبدى استجابة ضوئية وتتحرك نحو مصدر الضوء ، وتبتعد عن مناطق الظلام .

الاستجابة الهوائية : Aerotactic response

تقوم البكتريا الهوائية والإختيارية بعملياتها الأيضية فى وجـــود الأكســجين (الـــهواء الجوى) ، لذلك فإن هذه الأنواع البكتيرية تبدى استجابة لأكسجين الهواء الجوى ، وتتحرك نحـــو مصدره ، وتتجمع قرب الفقاقيع الهوائية ، وقرب حافة غطـــاء الشـــريحة (فـــى التحضـــيرات البكتيرية الموجودة بين الشريحة وغطائها) .

وعلى العكس من ذلك ، فإن البكتريا اللاهوائية تبتعد عن مصـــدر الـــهواء الجـــوى ، وتتجمع بوسط المزرعة ، أو فى قاع الأنبوبة النامية بها .

الاستجابة المغناطيسية : Magnetotactic response

تتأثر حركة بعض الأنواع البكتيرية بالاستجابة المغناطيسية ، كما فـــى حالـــة بكتريـــا *Magnetospirillum magnetobacterium* (*Aquaspirillum megnetotacticum*) ، التـــى تتأثر حركتها بالمجال المغناطيسى وتتجه إما ناحية الشمال أو ناحيـــة الجنـــوب المغناطيســـى ، وتعود الاستجابة المغناطيسية إلى وجود جسيمات مغناطيسية Magnetosomes توجـــد بداخـــل الخلية البكتيرية ، تحتوى على بللورات دقيقة من أكسيد الحديديك المغناطيســـى (الماجنيتـــايت) Fe_3O_4 ، وهى مواد ذات خواص مغناطيسية ، تجعل الخلية البكتيرية تعمل كمغنـــاطيس ثنـــائى القطب ، وتتأثر بخطوط المجال المغناطيسى ، وتتجه نحو الشمال أو نحو الجنوب المغناطيسى .

أغلب الأنواع البكتيرية التى تتأثر بالإستجابة المغناطيسية ، هى أنـــواع لاهوائيـــة أو محبة لكمية قليلة من الأكسجين ، وتعيش هذه الأنواع البكتيرية بأسطح الرواسب الموجودة بقـــاع مياه البرك أو البحار ، وتساعد خاصية الاستجابة المغناطيسية ، تلك الأنـــواع البكتيريـــة علـــى التحرك بالوسط المائى لأسفل ، حيث المناطق الفقيرة فى الأكسجين ، أو الرواسب الخالية مـــن الأكسجين .

﴿الباب الخامس – الفصل الثانى﴾

تركيب الخلية البكتيرية ووظائف أجزائها

المحتويـــات

المحتويات

الموضوع	الصفحة

(الباب الخامس - الفصل الثانى)

*تركيب الخلية البكتيرية ووظائف أجزائها
Structure and Function of Bacterial Cell

البكتريا ككل الكائنات الحية الدقيقة ، خلوية التركيب ، ولكنها تتميز عن باقى الكائنات الدقيقة الأخرى ، فى أن خلاياها ذات نواة غير محددة وغير محاطة بغلاف نووى ، أى أنها خلايا ذات نواه بدائية Procaryotes* ، بينما الكائنات الدقيقة الأخرى من خمائر وفطريات وطحالب وبروتوزوا ، ذات نواة مميزة ومحاطة بغلاف نووى أى أن خلاياها حقيقية النواة Eucaryotes* ، وينعكس هذا الوضع على التركيب الخلوى ، وعلى ماتؤديه مكونات الخلية المختلفة من وظائف ، بين مختلف الأحياء الدقيقة .

ولفترة مضت ، فقد كانت دراسة التركيب الداخلى للخلية البكتيرية أمر بالغ الصعوبة ، بسبب صغر حجم الخلية ، غير أنه ، بتقدم وتطور أجهزة الفحص بالمجهريات الضوئية والإلكترونية ، ومع تقدم تقنيات الفحص بالطرق البيوكيميائية والوراثية ... وغيرها ، واستخدام أجهزة الطرد المركزى فائق السرعة ، وطرق الفصل على درجات ، فقد أمكن إيضاح التركيب الداخلى الدقيق للخلية البكتيرية ، ومعرفة الوظائف التى تؤديها هذه التراكيب .

التركيب الكيميائى للخلية البكتيرية

يختلف التركيب الكيميائى للخلايا البكتيرية بإختلاف النوع ، وعمر المزرعة ، وباختلاف الظروف البيئية التى تنمو بها البكتريا . وعموما ، فإن الخلية البكتيرية تحتوى على نسبة مرتفعة من الماء تتراوح من ٧٠ إلى ٨٥% فى أغلب الأنواع ، قد يكون هذا الماء حرا ، أو مرتبطا مع غرويات ومكونات الخلية .
وعلى أساس الوزن الجاف ، فإن الخلية البكتيرية ، بصفة عامة تحتوى على ٥٠% كربون ، ١٠-١٥% نتروجين ، ٢-١٥% عناصر مثل

P (± 1-3%), Na, K, Ca, Mg (± 0.5%), Cl, Si,S (± 1%) ، وعناصر صغرى مثل Cu, Fe, Mo, Zn ، ونسبة C/N بالبكتريا حوالى ٥:١.

يوجد أغلب الكربون والنتروجين الخلوى فى الأحماض الأمينية ، التى ترتبط مع بعضها لتكون البروتين . وتتكون المادة العضوية البكتيرية من :

٥٠-٨٠% بروتين : يدخل فى ذلك البروتين البنائى ، والانزيمات ، والمرافقات الانزيمية ، والنيوكليوبروتينات ، والأحماض النووية

٢-٤٠% كربوهيدرات : يدخل فى ذلك المواد عديدة التسكر ، والسكريات الداخلة فى تركيب البروتينات ، والليبيدات ، واسيتايل جلوكوز أمين

---

* راجع جدول (٢-٣) بالباب الثانى ، لمعرفة الفروق بين خلايا بدائية النواة ، وخلايا حقيقية النواة ، ص ص ٢٥و٢٦.

١-١٠% ليبيدات : يدخل فى ذلك الأحماض الحرة ، والدهـــون المتعادلـــة (الجلســـريدات الثلاثية) ، والفوسفولبيدات ، والشموع .
قد تصل نسبة اللبيدات فى بعض أنواع البكتريا ، مثل بكتريا السل الـــى ٤٠% .

وعلى أساس الوزن الجاف للخلية البكتيرية ، فإن حامض الرنا RNA يشكل حوالــــى ١٠%، وحامض الدنا DNA بشكل حوالى ٢% ، وبفرض أن جـــزىء حـــامض الدنـــا يـــزن ٨×١٠^٦ ، فإن ٢% من الحامض تمثل حوالى ألف جزىء فى بكتريا *E. coli* .

أما العناصر العشر الكبرى الداخلة فى تركيب الخلية البكتيرية فإن نسبتها فى المتوســـط ٥٠% كربون ، ٢٠% أكسجين ، ١٢% نتروجين ، ١٨% ايدروجيـــن ، ٣% فوســـفور ، ١% لكل من الكبريت والكالسيوم والبوتاسيوم ، ٠,٥% لكل من الحديد والمغنسيوم .

التركيب الخلوى للخلية البكتيرية :

تتركب الخلية البكتيرية [شكل ٥ (٢) - ١] من سطح خلوى وبروتوبلاست . ويـــتركب السطح الخلوى من الطبقة اللزجة (العلبة ، الكابسول) والجدار الخلوى ، ومايقع علــــى الســـطح الخلوى من أسواط وشعيرات . أما البروتوبلاست فإنه يقع بداخل الجدار الخلوى ، ويشمل كـــلاً من الغشاء السيتوبلازمى ومنطقة البريبلازم ، والسيتوبلازم ، والمادة النووية ، والمواد المخزنـــة والحبيبات (مثل الميسوسوم والرايبوســـومات) ، وحوامـــل الصبغـــات Chromatophores ، والفجوات ، وكذلك الجراثيم البكتيرية فى الأنواع البكتيرية المتجرثمة .

ويصل المحتوى المائى للخلية البكتيرية الى حوالى ٧٠-٨٥% من وزنها ، وتـــتراوح نسبة المواد الصلبة بها من ١٥-٣٠% من وزن الخلية ، وتزداد نسبة المواد الصلبة عن ذلـــك بزيادة المواد المخزنة فى الخلية مثل الكبريت والفوسفات ، وعديـــدات التســـكر والبولـــى بيتـــا هيدروكسى بيوتيرات ... وغيرها .

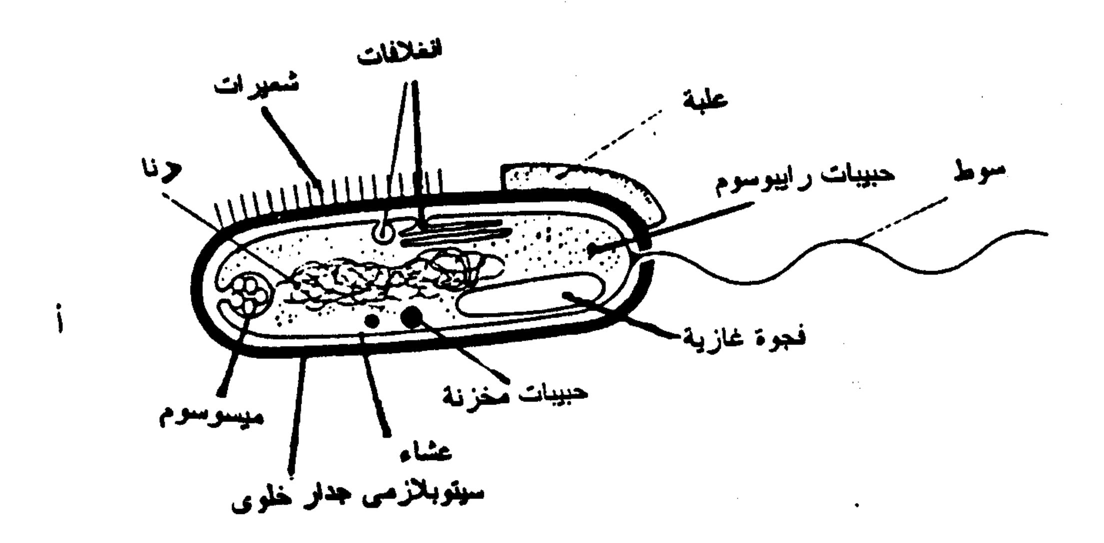
وفيما يلى توضيح لتركيب الخلية البكتيرية ، من الخارج الى الداخل

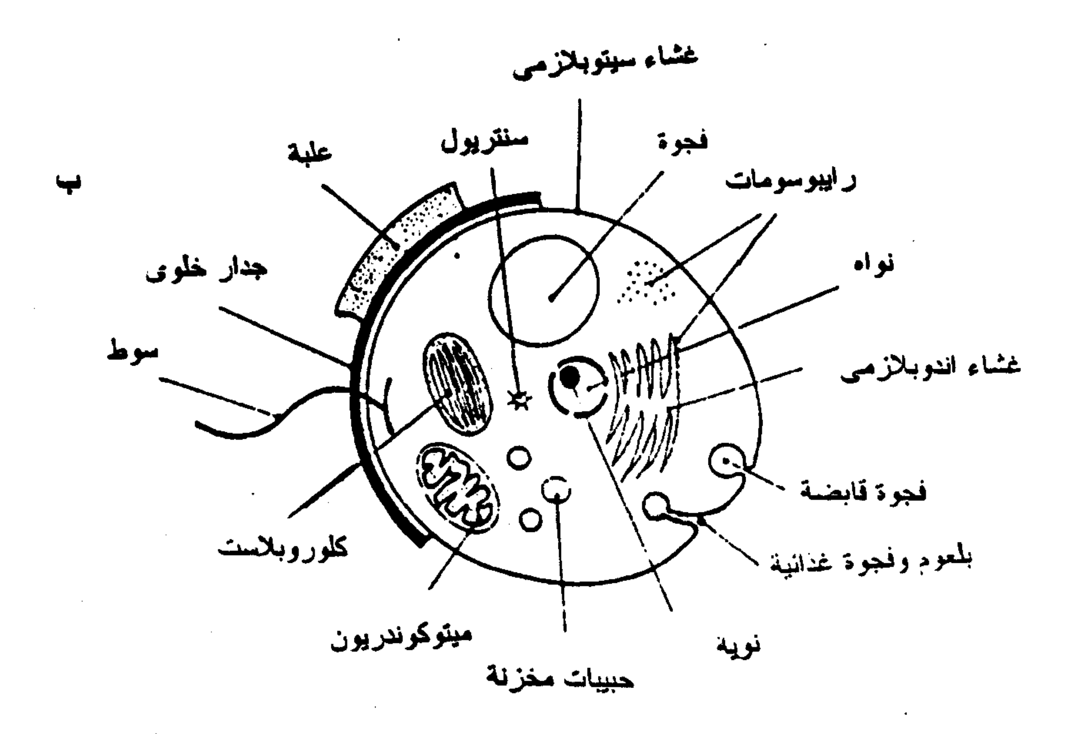
الأســـواط : Flagella

وقد سبق الكلام عنها بالتفصيل فى الجزء الخاص بحركة البكتريا بالفصل الأول مـــن هذا الباب .

الشعيرات ، البيلى Pili

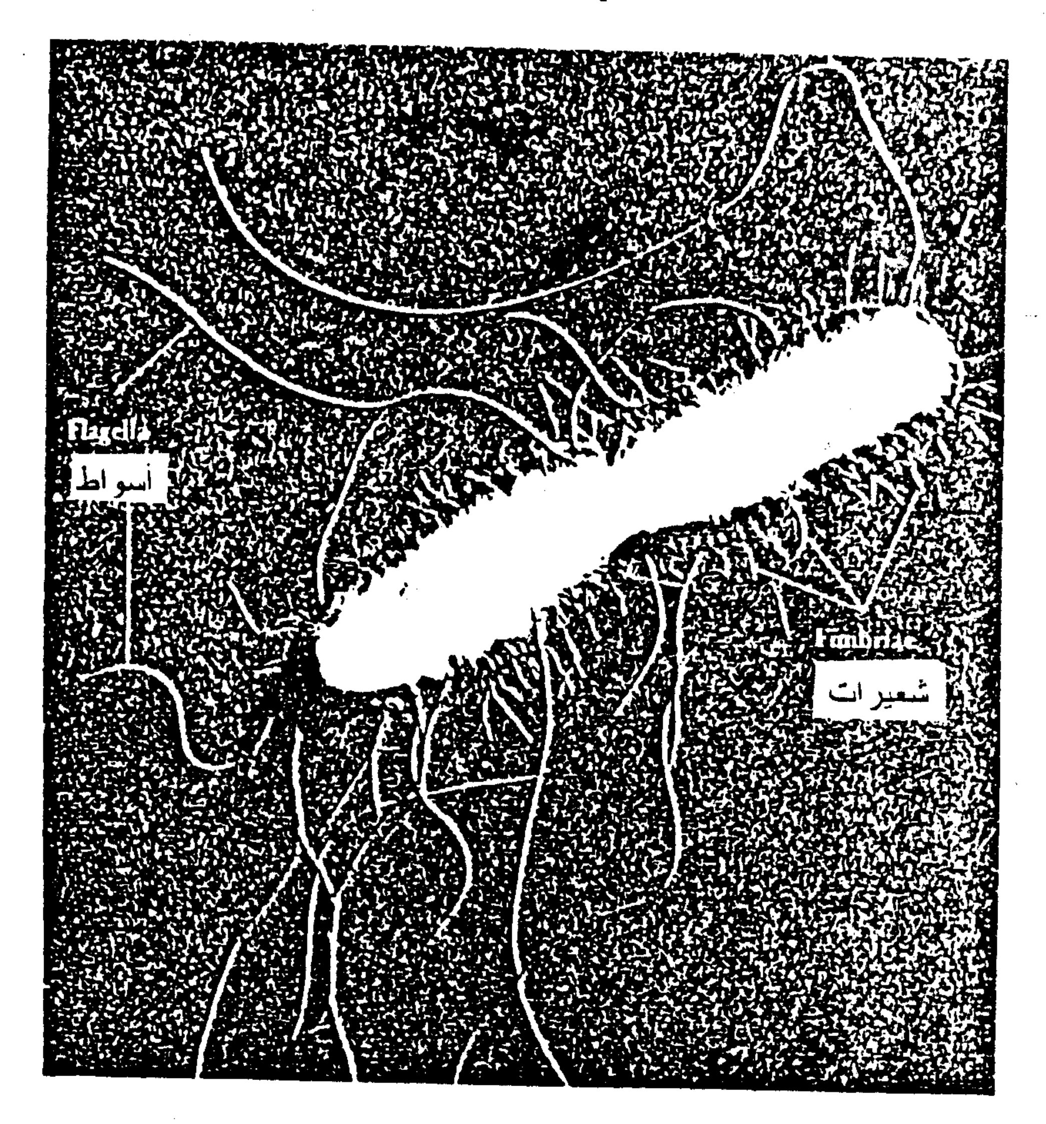
الشعيرات Pili (ومفردها Pilus) ، وقد تسمى أيضا Fimbriae (مفردها Fimbria) ، [شكل ٥ (٢) - ٢] ، هى عبارة عن زوائد خيطية مجوفة تمتد من سطح بعض أنواع البكتريا السالبة لصبغة جرام ، وتوجد على طول محيط الخلية ، ويمكن مشاهدتها بالمجهر الإلكترونى ، ويمكن إزالتها بالرج ، والشعيرات تشبه الأسواط ، ولكن ليس لها دور فـــى حركـــة البكتريـــا ، إذ أن الشعيرات توجد فى البكتريا المتحركة وغير المتحركة ، والشعيرات أقصر من الأسواط (يصـــل طولها لحوالى ١٢ ميكرومتر) ، وأرفع من الأسواط (يتراوح سمك الشعيرات مابين ٣ الـــى ٢٠ نانومتر) ، كما أن الشعيرات أكثر عدداً من الأسواط ، فقد يصل عددها إلى عدة مئات بالخليـــة





شكل ٥ (٢) – ١ : أ – شكل توضيحى للتركيب العام لخلية بكتريا

ب – شكل توضيحى لخلية حقيقية النواة (للمقارنة)



شكل ٥ (٢) - ٢ : صورة بالمجهر الالكترونى توضح وضع الأسواط والشعيرات (البيلى) على خلايا *E. coli* .

(من ٢٥٠ الى ٣٠٠ بالخلية الواحدة) ، ويمكن إزالة الشعيرات من الخلايا بالرج بالخلاط ، ولايؤثر فقدها على حياة الخلية .

تتكون الشعيرات من وحدات من بروتين يسمى بيلين Pilin ، وتلتف وحدات البروتين حول تجويف محورى ، مكونة أنبوبة مجوفة من البروتين ، ولبروتين الشعيرات خواص أنتجينية .

وظائف الشعيرات : Function of pili

تقوم الشعيرات البكتيرية بوظائف متعددة ، ويمكن تقسيم الشعيرات إلى أنواع ، حسب وظيفة كل نوع منها ، ويختلف كل نوع من الشعيرات عن الآخر فى طول الشعيرة ، وسمكها ، وفى أعداد مايوجد منها على الخلية البكتيرية .

فمن الشعيرات مايتعلق بالتزاوج بين الخلايا ، وتسمى بالشعيرات الجنسية Sex-pili . او بشعيرات الخصوبة F-pili ، وهذه الشعيرات متعلقة بالجنس ، وتمتاز عن أنواع الشعيرات الأخرى ، بأن عددها قليل (١ أو ٢ فى الخلية الواحدة) ، وبأنها أكثر طولا وأكثر سمكا عن باقى الشعيرات . وتوجد شعيرات الجنس بالخلايا البكتيرية الحاملة للعامل F ، وهى الخلايا المانحة لمادة الدنا الوراثية .

ويتحكم بلازميد الجنس F-plasmid فى الخصوبة ، وهو الذى يحكم أيضا المعلومات الوراثية الخاصة بتكوين شعيرات الجنس بالخلية المانحة . وتقوم شعيرات الجنس بربط الخلية المانحة للمادة الوراثية بالخلية المتلقية ، وتكوين مايعرف بقنطرة التزاوج Conjugating bridge، التى تمر منها مادة الدنا الوراثية من الخلية المانحة إلى الخلية المتلقية، وذلك كما فى حالة بكتريا *E. coli* K12 . ويوجد بالخلية المتلقية نقاطا متخصصة للالتصاق بالشعيرات الجنسية ، بحيث لايتم الالتصاق والتزاوج إلا بين خلايا النوع البكتيرى الواحد .

ومن الشعيرات مايعمل على لصق الخلايا البكتيرية ببعضها البعض ، والمساعدة فى النمو السطحى وتكوين الغشاء البكتيرى على سطح البيئة السائلة ، وإلصاق الخلايا البكتيرية بالخلايا النباتية والحيوانية الأخرى ، أو بلصقها بالسطوح الخاملة مثل السليلوز والزجاج ، أو بالسطوح الصلبة .

ومن الشعيرات مايساعد على إحداث المرض بالكائن ، حيث تساعد الشعيرات فى لصق البكتريا المرضية بخلايا النسيج ، كما يحدث فى حالة بكتريا السيلان التى تمتلك شعيرات تلصقها بسهولة بخلايا العائل ، ومن ثم تحدث الإصابة ، وهذا الالتصاق ضرورى لإحداث المرض . لأن السلالات البكتيرية الممرضة التى لاتمتلك تلك الشعيرات ، تفشل فى إحداث المرض بالعائل إذ أن الالتصاق يمنع غسيل خلايا البكتريا المرضية ، ويمنع زوالها مع الخلايا المخاطية المنفصلة ، أو مع سوائل الجسم المتدفقة .

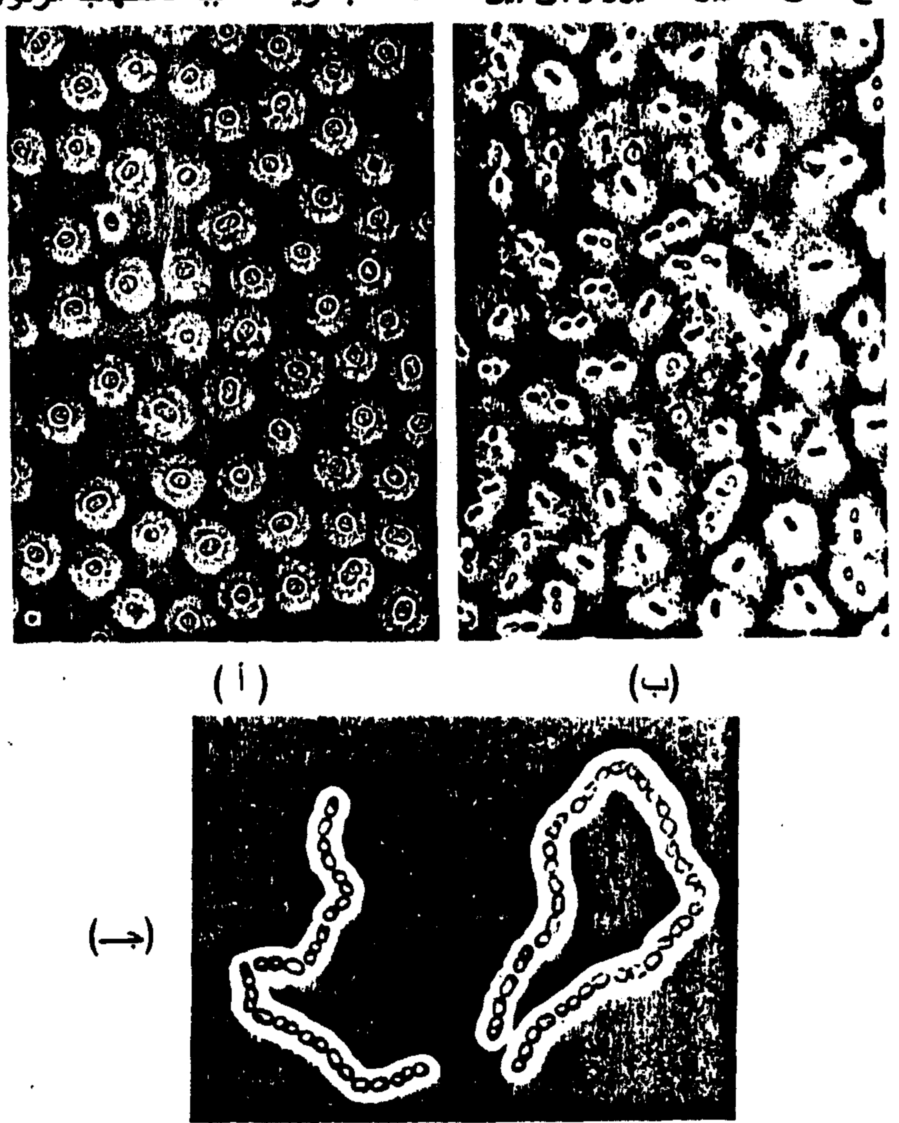
العلبة (الكابسول) : Capsule

العلبة هى الطبقة الخارجية التى تحيط بالخلية البكتيرية ، وهى طبقة هلامية Viscous لزجة Slimy ، يختلف سمكها باختلاف النوع البكتيرى ، فقد تكوّن العلبة غشاءا رقيقا فى بعض لانواع سمكه يقل عن ٠,٢ ميكرومتر ، وتسمى علبة دقيقة Microcapsule ، وقد تكوّن العلبة طبقة سميكة فى أنواع بكتيرية أخرى ، وتسمى طبقة لزجة Slime layer ، حيث يصل سمكها الى أكثر من ضعف قطر الخلية ، وتحيط العلبة بالخلية المفردة ، أو بالخلايا المتجمعة ، أو بسلسلة الخلايا إذا كان التجمع فى سلاسل ، وترتبط العلبة بجدار الخلية بروابط تكافؤية (تساهمية) Covalent bonds .

إظهار علبة الخلية البكتيرية

عادة لاتظهر طبقة الغلاف المكونة للعلبة ، عند صبغ الغشاء البكتيرى بطرق الصبغ العادية ، لذلك فإنه لإظهار العلبة وتوضيحها ، تستعمل طرقا خاصة لصبغ الخلية البكتيرية . تعرف بالصبغ السالب Negative staining ، مع استعمال صبغات مثل الحبر الصينى [شكل ٥ (٢)-٣] .

وقد تظهر العلبة باستخدام طرق سيرولوجية ، إذ يؤدى إضافة الأنتيسيروم المتخصص لبكتريا الالتهاب الرئوى *Streptococcus pneumoniae* ، الى إنتفاخ العلبة البكتيريـــة بشـــكل واضح ، إذ قد يصل الانتفاخ من ٥ الى ١٠ أضعاف حجم العلبة العادى ، ويسمى هذا التفـــاعل بتفاعل الانتفاخ Swelling (Quellung) reaction ، ويسمى أيضا بتفـــاعل نيوفلـــد Neufeld reaction ، نسبة الى اسم العالم الذى أجرى هذا التفاعل لأول مـــرة عـــام ١٩٠٢ ، ويســـتخدم تفاعل الانتفاخ ، فى التمييز السيرولوجى بين سلالات البكتريا المسببة للالتهاب الرئوى



شكل ٥ (٢) – ٣ : العلبة البكتيرية كما تظهر بالصبغ السالب

أ– بكتريا الكبريت الأرجوانية *Amoebobacter roseus* × ١٢٠٠ .

ب – بكتريا *Azotobacter chroococcum* × ٥٠٠ .

ج – بكتريا *Bacillus megaterium* × ١٠٠٠ (العلبة مغلفة لسلسلة الخلايا)

تركيب العلبة البكتيرية

تتكون العلبة البكتيرية ، فى معظم الأنواع ، من مواد كربوهيدراتية معقدة ، وهذه المواد قد تتكون من بوليمر لنوع واحد من السكريات ، كالجلوكوز أو الجالاكتوز أو المانوز أو الفراكتوز أو الأرابينوز ، أو تتكون من بوليمر لأكثر من نوع من السكريات ، ومن أمثلة السكريات المعقدة الداخلة فى تركيب العلبة البكتيرية

- الدكستران Dextran (عديد الجلوكوز) كما فى بكتريا *Leuconostoc mesenteroides*
- الليفان Levan (عديد الفركتوز) كما فى بكتريا *Streptococcus salivarius* .
- السليلوز (عديد الجلوكوز) كما فى بكتريا *Acetobacter xylinum* .

وفى بعض الأنواع البكتيرية ، قد يدخل فى تركيب العلبة ، الأحماض الأمينية ، أو السكريات الأمينية مثل اسيتايل جلوكوز أمين واسيتايل جالاكتوز أمين ، أو أحماض يورونية Uronic acids مثل حامض الجليكورونيك Glucoronic acid وحامض الجالاكتورونيك Galacturonic acid ، وذلك كما فى بكتريا *Streptococcus pneumoniae* .

وقد تتكون العلبة من مركبات ببتيدية معقدة Polypeptides كما فى بكتريا *Bacillus anthracis* ، التى تتكون علبتها أساسا من معقد حامض الجلوتاميك Polyglutamic acid .

العلبة البكتيرية التى تتكون من بوليمر لنوع واحد من السكريات ، تسمى علبة ذات سكريات متجانسة Homopolysaccharides ، وغالبا ماتخلق مكونات هذه العلبة من الوسط خارج الخلية ، وذلك بواسطة انزيمات تفرزها البكتريا إلى خارج الخلية ، وذلك كما يحدث بواسطة بكتريا *Streptococcus mutans* ، عند تخليق مادة الجلوكان من الجلوكوز .

أما العلبة البكتيرية التى تتكون من بوليمر لأكثر من نوع من السكريات ، تسمى علبة ذات سكريات عديدة خليطة Heteropolysaccharides ، وغالبا ماتخلق مكونات هذه العلبة من داخل الخلية البكتيرية ، بواسطة الانزيمات الداخلية ، ثم ترتبط المادة المخلقة بحامل ليبيدى. ينقل المادة المخلقة عبر غشاء الخلية السيتوبلازمى إلى خارج جدار الخلية ، حيث تدخل المادة المخلقة فى تركيب العلبة ، وذلك كما يحدث بواسطة بكتريا *Klebsiella pneumoniae* .

يختلف شكل وحجم وتركيب العلبة بإختلاف النوع البكتيرى ، وأحيانا بإختلاف السلالة البكتيرية ، وكذلك يختلف شكل وحجم وتركيب العلبة بإختلاف الظروف البيئية التى تعيش فيها البكتريا . عموما ، فإن تكوين العلبة البكتيرية فى البكتريا القادرة على تكوينها ، يزداد مع زيادة التهوية ، كما يزداد بوجود نسبة عالية من مصدر الكربون بالبيئة ، وباتساع نسبة الكربون إلى النتروجين C/N ratio فى بيئة النمو .

ويستفاد عمليا من الإختلافات الموجودة فى تركيب العلبة بين سلالات النوع البكتيرى الواحد ، فى تمييز تلك السلالات عن بعضها مناعيا ، وهذا مثل مايحدث عند التمييز السيرولوجى بين سلالات بكتريا *Streptococcus pneumoniae* المرضية المسببة لمرض

الالتهاب الرئوى ، البالغة عدد سلالاتها حوالى ٧٥ سلالة ، وهى سلالات ذات طـــرز مناعيـة مختلفة ، ويعتمد الاختلاف بين الأنواع السيرولوجية ، على التركيب الكيميائى لمادة العلبة بكــل سلالة .

تأثير العلبة على مظهر النمو البكتيرى

يؤثر وجود أو غياب طبقة الغلاف بالخلية ، على الشكل الظاهرى للنمـــو البكتـيرى ، سواء أكان ذلك فى البيئة الصلبة ، أو فى البيئة السائلة .

فالبكتريا المكونة للغلاف ، تكون مستعمراتا على البيئة الصلبة ذات مظـــهر رطـب ، هلامى القوام ، لزج ، لامع ، ناعم ، متجانس ، غــير خشــن ، وتعــرف تلــك المســتعمرات بالمستعمرات الناعمة Smooth colonies, (S) . وفى البيئة السائلة ، فإن الخلايا ذات الغــلاف النامية ، تبقى معلقة بالسائل وموزعة خلاله بانتظام ، مسببة تعكير البيئة ، ولاترسب إلى القاع.

أما فى حالة البكتريا التى بدون غلاف ، فإن مستعمراتها النامية على البيئة الصلبـــة ، تكون جافة ، غير مرتفعة عن سطح الآجار ، معتمه ، مجعدة ، محببة ، خشنة ، وتعرف تلــك المستعمرات بالمستعمرات الخشنة أو بالمستعمرات غير الملساء Rough colonies (R) . وفــى البيئة السائلة ، فإن الخلايا غير المغلفة النامية ، ترسب فى قاع انبوبة بيئـــة النمـــو ، أو تكــون قشرة على سطح البيئة .

وتعود حالة النعومة فى الخلايا البكتيرية ذات العلبة ، إلى كثافة ولزوجة المواد عديــدة السكريات الداخلة فى تكوين العلبة ، والتى تملأ الفراغات الموجودة بين الخلايـــا وبأســطحها ، وتعطى الخلايا مظهرا لزجا لامعا ناعما .

وبالإضافة الى الخلايا الخشنة والخلايا الناعمة ، فإنه توجد درجـــات متوســطة بيــن النعومة والخشونة فى الخلايا (RS cells) ، تسمى بالحالات الوسطية ، وهى الخلايا التى تتكون بها علبة ذات محتوى قليل من المواد عديدة السكريات .

ويعتبر تكوين طفرات من البكتريا غير قادرة على تكوين العلبة ، من الحالات الشــائعة الحدوث فى المزارع البكتيرية ، كما تتحول خلايا R ⟵ S ، وفى بعض الحالات قد تتحـول خلايا S ⟵ R .

أهمية العلبة البكتيرية

وجود أو عدم وجود العلبة البكتيرية ليس له علاقة بحيوية البكتريا ، فمن الممكن إزالـة العلبة بالرج أو بطرق صناعية ، أو بمنع تكوين العلبة بتغيير الظروف البيئية أو بــالتطفر ، دون أن يؤثر ذلك على حيوية الخلية البكتيرية .

غير أن للعلبة فوائد أخرى عديدة للخلايا البكتيرية ، حيث

* تعمل العلبة على حماية الخلية البكتيرية من الظروف البيئيـــة السـيئة ، خاصــة الجفــاف ، فالبكتريا ذات العلبة أكثر تحملا للجفاف من البكتريا عديمة العلبة .

* للعلبة أهمية كبيرة من الناحية المرضية ، حيث ترتبط الحدة الإمراضية Virulence للبكتريا ذات العلبة ، بوجود وبغياب العلبة .

ففى حالة البكتريا الممرضة *Streptococcus pneumoniae* ، نلاحظ أن السلالة الممرضة ذات العلبة تمتاز بحدتها الإمراضية العالية ، عن السلالة عديمة العلبة ، لأن العلبة تزيد من حجم البكتريا ، فتحميها من هجوم خلايا الجسم اللاقمة مثل كرات الدم البيضاء ، ومن تأثير الأجسام المضادة ، كما أن وجود العلبة يغطى نقاط التعارف (*) Recognition sites الموجودة على سطح الخلية البكتيرية التى تتعرف بها على الخلايا اللاقمة ، وبهذا لايتم التقام البكتريا الممرضة من الخلايا اللاقمة .

* وجود العلبة يساعد بكتريا *Streptococcus mutans & S. salivarius* على إحداث التسوس بالأسنان . فالغلاف يساعد هذه البكتريا على الالتصاق بالأسنان ، وإحداث التسوس بها.

* استخدام إختلافات التركيب الكيميائى بين علب السلالات البكتيرية المختلفة ، فى التمييز السيرولوجى بين السلالات وبعضها ، كما فى حالة بكتريا الالتهاب الرئوى .

تأثير العلبة البكتيرية على لزوجة الوسط

قد تذوب المواد الهلامية المكونة للعلبة البكتيرية فى بيئة النمو ، ويؤدى ذلك إلى حدوث لزوجة بالمزرعة ، كما قد تتسبب البكتريا ذات العلبة بما تفرزه من مواد لزجة وإنزيمات ، فى حدوث خسائر كبيرة بالصناعة ، ويلاحظ ذلك فى صناعة السكر ، فعندما تنمو فى المحاليل السكرية ، بكتريا مثل *Leuconostoc dextranicum & L. mesenteroides* ، وهى بكتريا خليطة التخمر ، فإنها تحول السكروز القابل للتبلور إلى مادة غير متبلورة ، جيلاتينية صمغية ، هى الدكستران ، بتأثير إنزيم يفرز خارج خلية البكتريا هو إنزيم Dextran sucrase ، مما يسبب أضرارا كبيرة فى انتاج السكر .

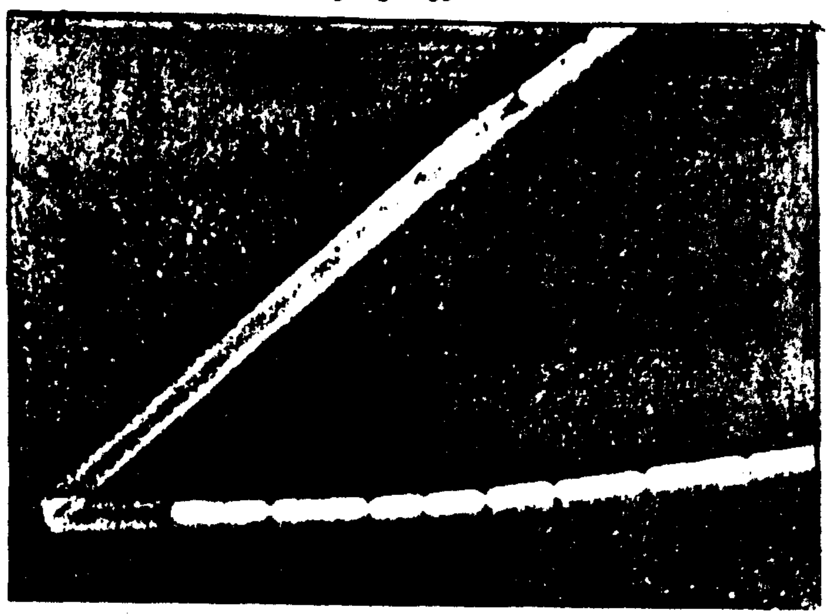
الغلاف ، الغمد : Sheath

الغلاف عبارة عن تركيب أنبوبى ، يحيط بسلسلة الخلايا البكتيرية النامية فى شكل خيط. وتُكَوِّن الغلاف بعض أنواع البكتريا الخيطية ، خاصة تلك الموجودة بالأوساط المائية ، مثل بكتريا *Sphaerotilus natans* [شكل ٥ (٢) - ٤] .

ويتكون الغلاف من مركب عديد السكريات يحتوى على جلوكوز وحامض جليكورونيك وجالاكتوز وفيكوز Fucose (سكر سداسى الدهيدى) ، وقد يدخل فى تركيب الغلاف إيدروكسيدات الحديد والمنجنيز .

ويعمل الخيط على حماية الخلايا المكونة للخيط من الظروف السيئة ، كما يساعد على بقاء خلايا الخيط مرتبطة ببعضها .

(*) أنظر كربوهيدرات الغشاء السيتوبلازمى والارتشاف ص ٢٢٤



شكل ٥ (٢) - ٤ : بكتريا *Sphaerotilus natans* المغلفة

تتكون سلسلة الخلايا من خلايا (أبعاد الخلية ١ × ٢-٦ ميكرومتر) ، ويحيط الغلاف بسلسلة الخلايا ، وقد يصل طول الغلاف إلى عدة ملليمترات .

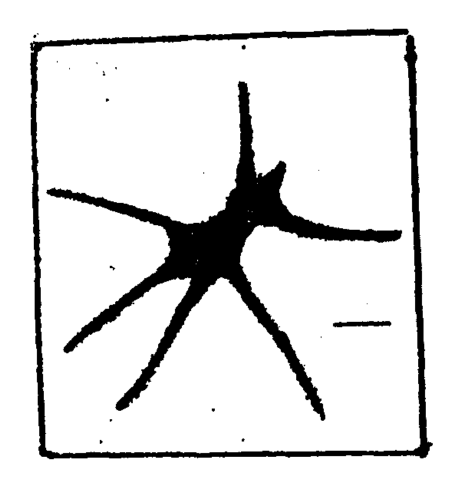
الزوائد والسوق : Prosthecae and Stalks

الزوائد Prosthecae (مفردها Prostheca) عبارة عن إمتدادات نصف صلبة ، قطرها أقل من قطر الخلية ، تخرج من الغشاء السيتوبلازمى والجدار الخلوى ، وتمتد إلى خارج الخلية البكتيرية .

وتوجد الزوائد فى بعض أنواع البكتريا الهوائية التى تعيش بالأوساط المائية ، سواء العذبة أو المالحة ، ولبعض الأجناس البكتيرية ، مثل *Caulobacter* [شكل ٥ (٢) - ٥] زائدة واحدة ، وللبعض الأخر مثل *Ancalomicrobium* أكثر من زائدة .

تساعد الزوائد الخلايا البكتيرية على إمتصاص مايلزمها من مواد غذائية ، ومن الزوائد مايساعد الخلايا البكتيرية على الالتصاق بالأسطح ، كما أن بعض الزوائد تكون براعم للتكاثر فى أطرافها .

أما السوق Stalks ، فإنها إمتدادات شريطية أو أنبوبية ، غير حية ، تفرزها بعض الخلايا البكتيرية مثل *Gallionella & Planctomyces* ، وتستعمل السوق كدعامة للتثبيت ، كما أنها تساعد على إلتصاق الخلايا بالأسطح الصلبة .



شكل ٥ (٢) – ٥ : بكتريا *Ancalomicrobium adetum* وهى بكتريا متبرعمة ولـــها أكثر من زائدة .

يمثل الخط واحد ميكرومتر

الجدار الخلوى : Cell wall

يقع الجدار الخلوى أسفل التركيبات السطحية الخارجية للخلية (مثل العلبـــة والغمـــد) ، وأعلى طبقة الغشاء السيتوبلازمى فى الخلية .

ومن حيث الجدار ، فإنه يمكن من هذه الناحية ، تقسيم البكتريا إلى ثلاثة أقسام مميزة ، هى

١-بكتريا الأركيو : Archaeobacteria

أغلب أنواع هذه البكتريا لها جدار خلوى ، وهو يختلف فى تركيبه بإختلاف الأنـــواع ، كما يختلف فى تركيبه عن تركيب جدر خلايا البكتريا الحقيقية .

فجدار خلايا الأركيو لايحتوى على ببتيدوجلوكان ، ويتكون من بروتين وجليكوبروتيـــن وعديدات التسكر ، وبعضاً من بكتريا الأركيو ، مثل *Methanobacterium* يحتوى جداره على ميورين كاذب Pseudomurein ، (أنظر الشكل التالى)وهو يختلف عـــن ميوريـــن البكتريـــا الحقيقية فى أنه

(أ) يحتوى على N-acetyl-talosaminuronic acid بدلا من N-acetyl muramic acid ،

(ب) وفى أن السلاسل الببتيدية الداخلة فى التركيب ، تتكون من أحماض أمينية كلها يسارية .

٢-البكتريا الراقية : Higher bacteria

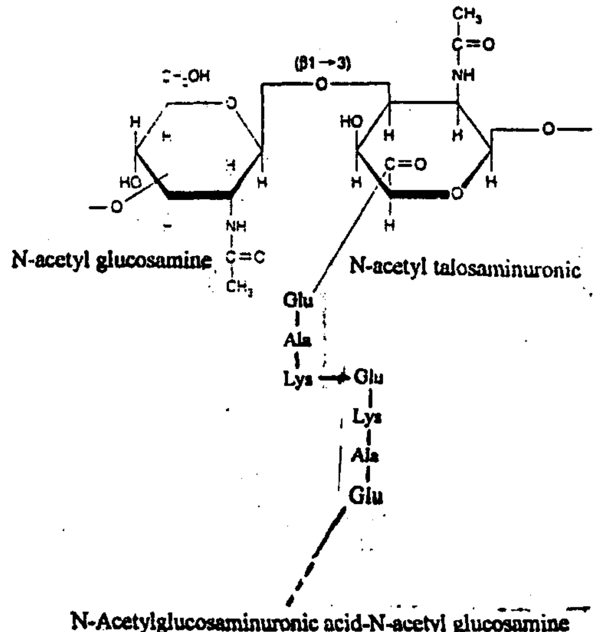
مثل تلك التابعة لرتبة Myxobacteriales & Spirochaetales ، وليس لهذه البكتريـــا جدار خلوى ، بمعنى أنها خالية من الجدار الخلوى الصلب المميز لجدر البكتريا الحقيقية .

٣- البكتريا الحقيقية : True bacteria

وتمثل هذه البكتريا أغلب أنواع البكتريا ، وتتميز بأن لها جدارا خلويا صلبـــا Rigid ، ولكنه قابل للشد والإنثناء .

ويمثل الجدار بهذه البكتريا حوالى ٢٠% من الوزن الجاف ، ويتراوح سمكه مابين ١٠ الى ٢٥ نانومتر ، وفيما يلى تفصيلا لما يتعلق بالجدار الخلوى لخلايا البكتريا الحقيقية .

ويوضح الشكل التالى تركيب الميورين الكاذب بجدار بكتريا الأركيو



شكل يبين الوحدة المتكرره من السكريات الأمينية والأحماض الأمينية ، الداخلة فى تركيب الميورين الكاذب بجدار خلية *Methanobacterium* . ولايوجد مركب N-acetyl talosaminuronic إلا فى جدار بكتريا الأركيو

Glu : جلوتاميك ، Ala : الانين ، Lys : لايسين

خاصية الصبغ للجدار الخلوى

تعتبر قابلية الجدار الخلوى البكتيرى للصبغ بالطرق العادية ضعيفة ، غير أنه يمكن مشاهدة الجدار مجهريا وفحصه ، باستعمال طرقا خاصة فى تحضير وصبغ الغشاء البكتيرى . ويتلخص ذلك فى معاملة الخلايا بمرسخ كحامض التانيك ، الذى بإتحاده مع المواد المكونة للجدار ، فإن سمك الجدار يزداد ، كما تزداد قابليته للصبغ ، وبالتالى يمكن مشاهدته وفحصه بالمجهر الضوئى .

الصبغ بصبغة جرام

من المعروف أن الخلايا البكتيرية إما موجبة أو سالبة لصبغة جرام ، وهى صفة تقسيمية هامة فى البكتريا ، فالخلايا الموجبة لصبغة جرام ، تحتفظ بلون صبغة الجنسيان البنفسجى رغم غسيل الخلايا بالكحول ، بينما لاتحتفظ الخلايا السالبة لصبغة جرام بلون صبغة الجنسيان ، وتأخذ اللون الوردى الخاص بصبغة الفوكسين .

والجدار الخلوى للبكتريا ، إضافة إلى الغشاء السيتوبلازمى ، مسئول عن إيجابية أو سالبية الصبغ بصبغة جرام ، ومما يؤكد ذلك ، أن الخلايا الموجبة لصبغة جرام ، إذا مافقدت جدارها الخلوى عند معاملتها بإنزيم اللايسوزيم ، فإنها تفقد فى نفس الوقت قدرتها على الاحتفاظ بلون صبغة الجنسيان البنفسجى .

الصبغ الصامد للأحماض

الجدار الخلوى للبكتريا هو المسئول أيضا عن الصبغ الصامد للأحماض ، إذ أن الخلايا الصامدة للأحماض ، مثل بكتريا مرض السل ، يحتوى جدارها الخلوى على حامض مايكوليك Mycolic ، وهو حامض دهنى به ٩٠ ذرة كربون ، وهذا الحامض هو المسئول عن خاصية صمود الخلايا للصبغ الحامضى ، ورمز الحامض العام

$$R_1 - \underset{\displaystyle |}{\overset{OH}{CH}} - \overset{R_2}{\underset{\displaystyle |}{CH}} - COOH$$

وتمثل R_1 ، R_2 سلاسل طويلة من الهيدروكربونات .

ومن مشتقات حامض المايكوليك مادة Trehalose dimycolate . وهى مادة سامة ، وتلعب دورا هاما فى الأمراض الناتجة عن بكتريا السل وبكتريا الدفتريا .

تأثير اللايسوزيم والبنسلين على الجدار الخلوى

اللايسوزيم : Lysozyme

اكتشف اللايسوزيم ، أو مايسمى بأسم Acetyl muramidase ، العالم فلمنج عام ١٩٢٢ ، ويوجد اللايسوزيم فى بياض البيض والدموع ، والعرق وإفرازات الأنف المخاطية .

وتؤدى معاملة الخلايا البكتيرية بإنزيم اللايسوزيم ، إلى تحلل الخلايا الموجبة لصبغة جرام ، كما تؤدى المعاملة بالانزيم أيضا الى تحلل الخلايا السالبة لصبغة جرام ، بعد تحرير طبقة ميورين الجدار من الليبوبولى سكريات المرتبطة بالميورين بأيونات كالسيوم ، وذلك باستخدام مادة مخلبية مثل EDTA ، التى تنزع الكالسيوم من المركب ، فيتحرر الميورين من الليبوبولى سكريات ، فيصبح الميورين خاضعا للتأثر باللايسوزيم .

يهاجم اللايسوزيم روابط الجليكوزيد بالميورين ، الواقعة بين ذرة C_1 بمركب استيايل ميراميك ، وذرة C_4 بمركب استيايل جلوكوز أمين ، فيتحلل الميورين ، لذلك فإن اللايسوزيم يؤثر على الخلايا التامة النمو أو التى فى طور سكون .

وبالإضافة إلى اللايسوزيم ، فإنه توجد إنزيمات أخرى تحلل الميورين ، بفك روابطه الببتيدية ، مثل إنزيمات Muco-endopeptidases التى توجد أساسا بالبكتريا .

البنسلين : Penicillin

البنسلين أول مضاد حيوى اكتشف ، وكان ذلك عام ١٩٢٨ بواسطة فلمنج ، ويؤثر البنسلين أساسا على البكتريا الموجبة لصبغة جرام ، مثل البكتريا العنقودية والسبحية ، لاحتواء جدارها على نسبة مرتفعة من الميورين .

يثبط البنسلين عملية تخليق مادة ببتيدوجلوكان الجدار الخلوى ، بمنع تكوين الروابط بين وحداتها البنائية ، لذلك فإن البنسلين يؤثر فقط على الخلايا التى تحت التكوين ، ولايؤثر على الخلايا النامية أو التى فى طور سكون .

من التأثيرات التى تنتج من استعمال البنسلين ، تكوين خلايا الـ L-forms * ، وهذه عبارة عن خلايا بكتيرية فقدت جدارها الخلوى بتأثير المعاملة بالبنسلين ، وتظهر الخلايا غير منتظمة الأشكال والأحجام ، وفاقدة لصلابتها مقارنة بالخلايا العادية .

وقد يظهر نتيجة المعاملة بالبنسلين ، مايعرف بالسفيروبلاست Sphaeroplast ، وهى خلايا غير منتظمة الشكل أيضاً ، ولكنها فقدت أجزاء من الجدار الخلوى ، وليس كل جدارها الخلوى ، وبقيت الخلايا محتفظة بأجزاء من الجدار الخلوى .

تركيب الجدار الخلوى

أمكن معرفة التركيب الكيميائى لمكونات الجدار الخلوى للبكتريا ، بعد أن أمكن عام ١٩٤٨ فصل الجدار عن باقى مكونات الخلية البكتيرية . وقد تم ذلك بخلط المعلق البكتيرى بكريات زجاج Glass beads ، ذات قطر ٠,٠٧ مم ، مع الرج السريع ، فأمكن بذلك تكسير الخلايا . وبالغسيل والطرد المركزى ، أمكن فصل الجدار الخلوى البكتيرى من باقى مكونات الخلية الأخرى .

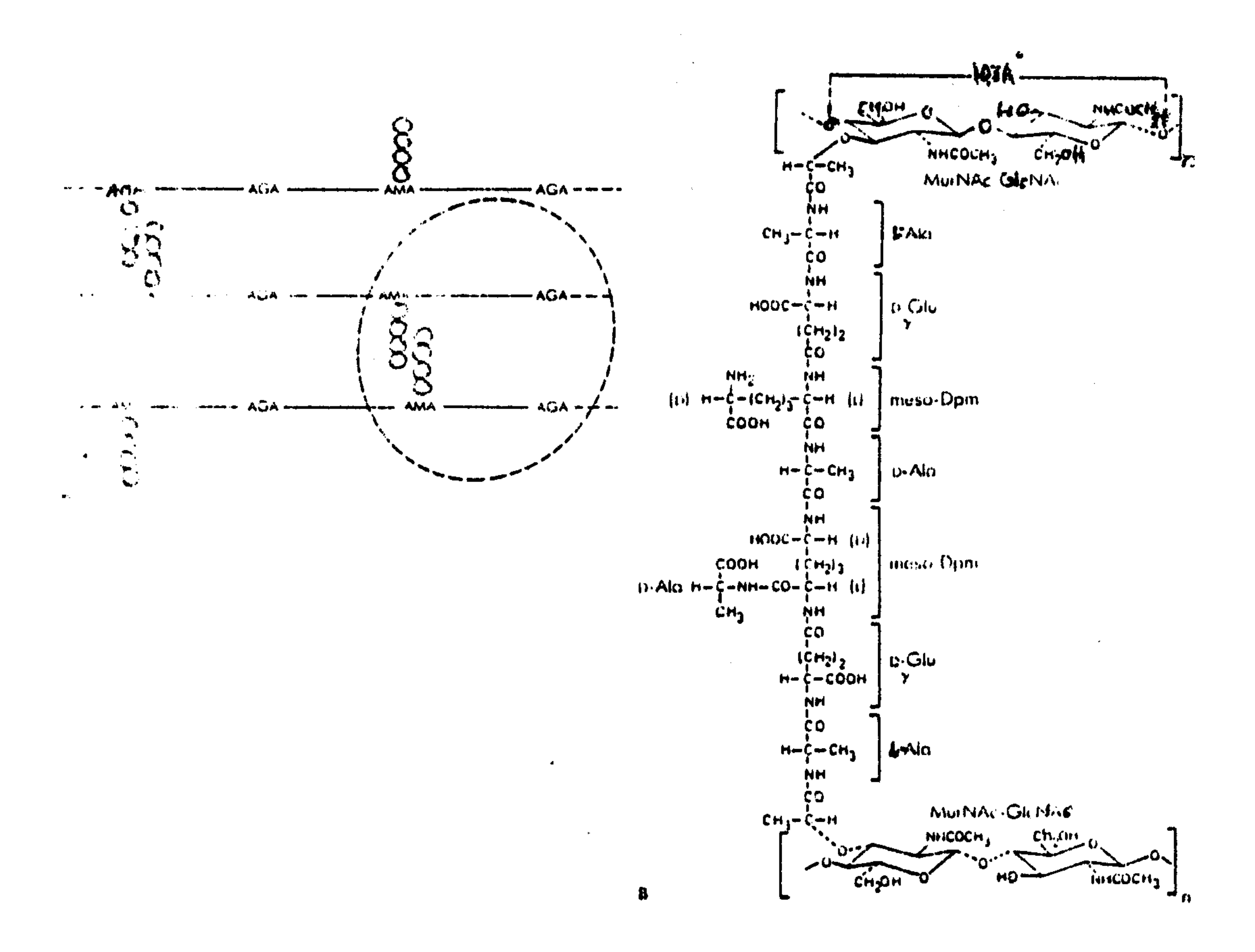
يتركب الجدار الخلوى فى البكتريا الحقيقية أساسا من مادة الببتيدوجلوكان Peptidoglycan ، وقد تسمى ميكوببتيد أو ميورين Mucopeptide ; Murein ، وهو بوليمر غير قابل للذوبان ، منفذ ، يكون خيوطا متشابكة تمتاز بطولها وبصلابتها ، مع قابليتها فى نفس الوقت للشد والإنثناء ، ويحيط الببتيدوجلوكان بالغشاء السيتوبلازمى للخلية البكتيرية .

لايوجد الببتيدوجلوكان إلا فى خلايا بدائية النواة ، وهو يختلف فى التركيب قليلا بين نوع بكتيرى وآخر ، ولكنه بوليمر يتكون أساسا من

أسيتايل جلوكوز أمين	N-acetyl glucose amine
اسيتايل حامض الميراميك	N-acetyl muramic acid
الانين – يسارى	L- alanine
الانين – يمينى	D-alanine
جلوتاميك – يمينى	D-glutamic
حامض داى أمينو بيميليك – ميسو	m-Diaminopimelic acid
لايسين – يسارى	L-Lysine
أورنيثين – يسارى	L-Ornithine
حامض داى أمينو بيوتيريك – يسارى	L-Diamino butyric acid

* يشير حرف L ، الى معهد ليستر Lister بلندن ، الذى اكتشف به لأول مرة عام ١٩٣٤ ، حالة وجود خلايا بكتيرية بدون جدار خلوى ، أنظر ص ٤٨٥ .

ويوضح الشكل [٥ (٢) – ٦] ، والشكل [٥ (٢) – ٧] ، تركيب وبناء الببتيدوجلوكان



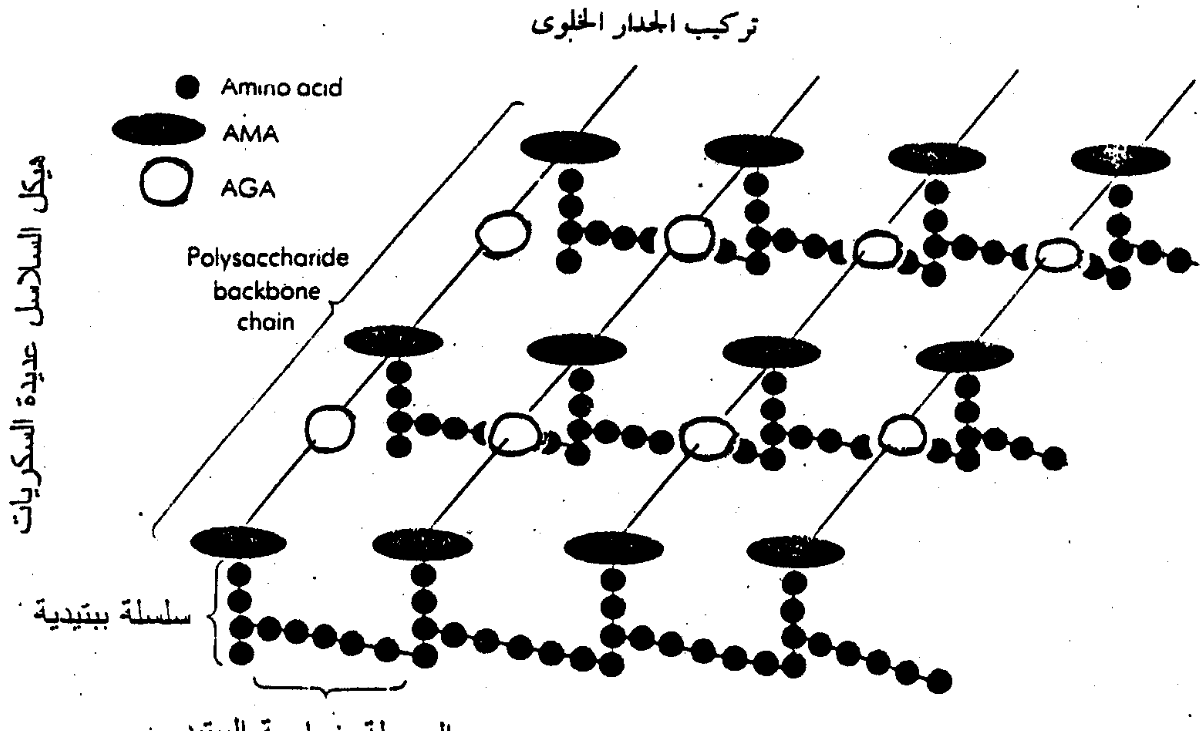
شكل ٥ (٢) – ٦ :
A : التركيب العام للببتيدوجلوكان

AMA : Acetylmuramic acid
AGA : Acetylglucose amine
O : Amino acids
◯ :B الجزء ذو الدائرة المنقطة ، مكبر فى الجزء

B : الوحدة الأساسية المكونة للميورين فى بكتريا *E. coli*
الوحدات ثنائية السكريد المتجاورة ، الموجودة بالسلاسل عديدة السكريات المتجاورة ، ترتبط مع بعضها بسلاسل ببتيدية .

Ala: Alanine , Glu: Glutamic , Dpm: Diaminopimelic

تركيب الجدار الخلوى



شكل ٥ (٢) - ٧ : التركيب العام للببتيدوجلوكان

لاحظ الوصلة خماسية الببتيد التى تربط بين السلاسل

AMA : Acetylmuramic acid

AGA : Acetylglucose amine

وكما هو واضح من التركيب والأشكال السابقة ، فإن الببتيدوجلوكان يتركب من ٣ وحدات بنائية أساسية ، هى

١ - اسيتايل جلوكوز أمين	1. Acetylglucose amine (AGA)
٢- أسيتايل حامض الميراميك (استر حامض اللاكتيك)	2- Acetyl muramic acid (AMA)
٣- ببتيد يتكون من ٤ أو ٥ أحماض أمينية	3- Peptide ....

وحدات AMA , AGA وحدات متبادلة ، بروابط بيتا ١-٤ ، تتقاطع مع سلاسل ببتيدية قصيرة ، ويختلف تركيب السلاسل الببتيدية من نوع بكتيرى لآخر ، ولكن أكثرها شيوعا هى سلسلة من أربعة أحماض أمينية ، بعضها مشابهات يسارية (L) وهو النوع السائد ، وبعضها مشابهات يمينية (D) .

الببتيدوجلوكان هو التركيب الأساسى الذى يعطى للجدار الخلوى صلابته ، إضافة إلى ذلك ، فإن نظام إرتباط سلاسل وحدات الببتيدوجلوكان البنائية ، المتقاطعة مع الوحدات الببتيدية، يكون فى مجموعة تركيبا شبكيا يزيد من صلابة الجدار الخلوى ، كما أن وجود حامض التيكوييك بجدار الخلايا الموجبة لصبغة جرام يزيد من صلابتها .

ويمتاز الجدار الخلوى البكتيرى ، بأنه يحتوى على مكونات ، لاتوجد إلا فى الكائنات بدائية النواة ، فالمشابهات اليمينية D-isomers للأحماض الأمينية الداخلة فى تركيب السلاسل الببتيدية ، هى حالة خاصة ولاتوجد إلا فى بدائيات النواة ، حيث أن نصف كمية الالانين وكل حامض الجلوتاميك الداخل فى تركيب السلسلة الببتيدية من النوع اليمينى .

ومن ضمن الأحماض الأمينية الداخلة فى تركيب السلسلة الببتيدية ، حامض Diaminopimelic acid ، ولايوجد هذا الحامض أيضا إلا فى بدائيات النواة ، وكذلك فإن حامض الميراميك لايوجد إلا فى بدائيات النواة .

جدر الخلايا البكتيرية الموجبة والسالبة لصبغة جرام

يختلف جدار البكتريا الموجبة عن جدار البكتريا السالبة لصبغة جرام فى بعض الصفات ، وجدول [٥ (٢)-١] التالى ، يوضح الفروقات الهامة بين جدر النوعين .

جدول ٥ (٢) - ١ : الفروقات الهامة بين جدر البكتريا الموجبة والبكتريا السالبة لصبغة جرام .

الصفة	البكتريا الموجبة لصبغة لجرام	البكتريا السالبة لصبغة جرام
سمك الجدار الخلوى	سميك ويتراوح سمكه من ٢٠-٢٥ nm	رفيع ويتراوح سمكه من ١٠-١٥ nm
شبكة الميورين	نسبتها عالية وتشكل حوالى ٥٠% أو اكثر من الوزن الجاف للجدار	نسبتها منخفضة وتشكل حوالى ١٠% من الوزن الجاف للجدار
الغشاء الخارجى لسطح الميورين	لايوجد	يوجد
اللايسين	يوجد	لايوجد
حامض التيكوييك	يوجد ويرتبط الميكوييك بروابط تكافؤية مع ميورين الجدار ، ويزيد من صلابه الجدار	لايوجد
حامض المايكوليك	يوجد فى بعض الأنواع ، ويعطى لها صفة الصمود للصبغ الحامضى	لايوجد
الأحماض الأمينية العطرية والكبريتية	لايوجد	يوجد
الحيز البريبلازمى	لايوجد	يوجد

تابع جدول ٥ (٢) – ١ :

الصفــــة	البكتريا الموجبة لصبغة لجراء	البكتريا السالبة لصبغة جرام
المحتوى الليبيدى	قليل ويمثل حوالى ٢% من الوزن الجاف للجدار . وهو غالبا أحماض دهنية ، فى سلاسل من ٠ الى ٥٠ وحــدة جلسرول مرتبطة بروابط فوسفات استيرية ، وبعضها يحتــوى علــى المــانيتول أو الإرثريتول	كثيــــر ويمثل حوالى ٢٠% من الوزن الجــاف للجدار . وهو عبارة عن ليبوبروتين ، وليبوعديد السكريات ، ويرتبط بروابط تكافؤية ، مع الميورين

حامض التيكوييك : Teichoic acid

مصطلح Teichoic ذو أصل إغريقى ، ويعني جدار ، وقد تم التعرف على حـــامض التيكوييك عند فحص جدر الخلايا ، ومن هنا جاءت التسمية ، والحامض عبارة عن بوليمر مـــن فوسفات الريبيتول أو فوسفات الجلسرول ، وسكريات أخرى مفسفرة ، وهو يوجد فـــى بعــض أنواع البكتريا الموجبة لصبغة جرام ، ويرتبط الحامض بروابط أيونية مع المغنسيوم ، ويرتبـــط بروابط تكافؤية مع الميورين ، وهو يساعد على زيادة صلابة الجدار الخلوى ، وزيادة مقاومـــة البكتريا للحرارة ، ويوضح الشكل [٥ (٢) – ٨] ، بعض تركيبات حامض التيكوييك .

جليسرول حامض التيكوييك

سكر أو الانين

$$-(P)—[OCH_2-CH(O-)-CH_2-O-(P)]_n—$$

ريبتول حامض التيكوييــــك

$$-(P)—[OCH_2-CH(O-سكر)-CH(O-الانين)-CH(O-د)-CH_2-O-(P)]_n—$$

سكر الانين د –

جليسرول حامض التيكوييك مع جلوكوز بالسلسلة

$$-(P)—[OCH_2 \ldots \text{(حلقة)}—O—CH_2-CHOH-CH_2-O-(P)]_n—$$

شكل ٥ (٢) – ٨ : بعض تركيبات حامض التيكوييك

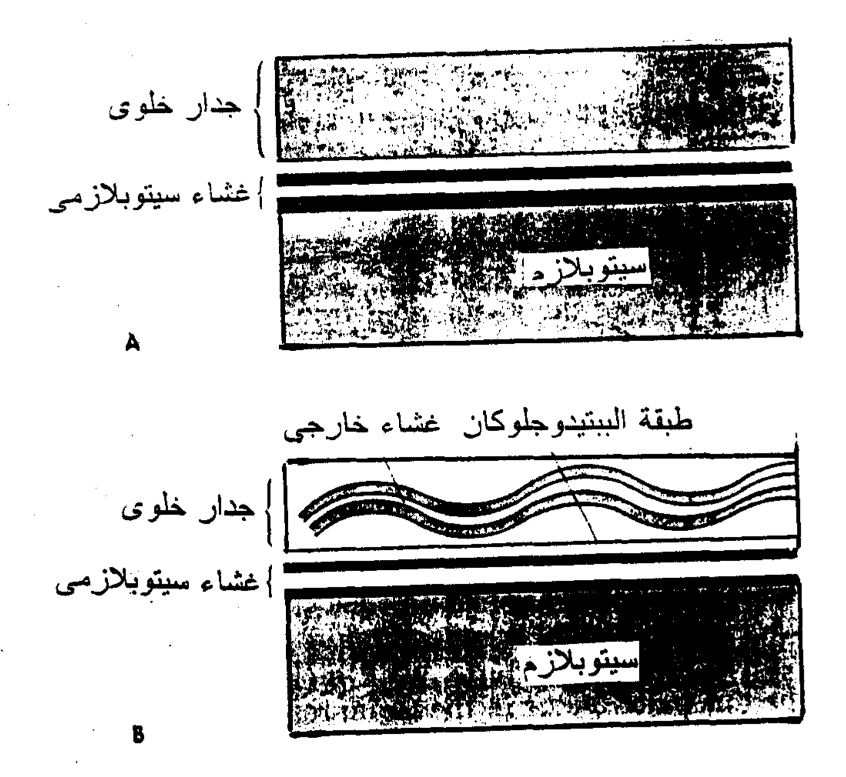
الغشاء الخارجى للميورين : Outer membrane of murein

بالإضافة إلى الفروقات الموضحة بالجدول [٥ (٢) -١] السابق ، فإن من أهم مـــايميز جدار البكتريا السالبة لصبغة جرام ، هو وجود غشاء خـــارجى Outer membrane ، يغطـــى السطح العلوى لطبقة الميورين الرقيقة الموجودة بجدار الخلية [شكل ٥ (٢) - ٩] .

ويفيد هذا الغشاء الخارجى ، البكتريا السالبة لصبغة جرام فى نواحى عديدة ، منها أنه

* يعمل كحاجز يحول دون خروج بعض الانزيمات الهامة الى خـــارج الخليـــة ، مثـــل تلـــك الانزيمات الخاصة بنمو الجدار الخلوى .

* ويعمل على حماية مكونات الخلية الداخلية ، من تأثير الكيماويات الضارة الموجودة بالوســـط خارج الخلية ، ومن دخول بعض الانزيمات المحللة للميورين مثل اللايسوزيم ، ومنع وصوله الى طبقة الميورين وتحليله .



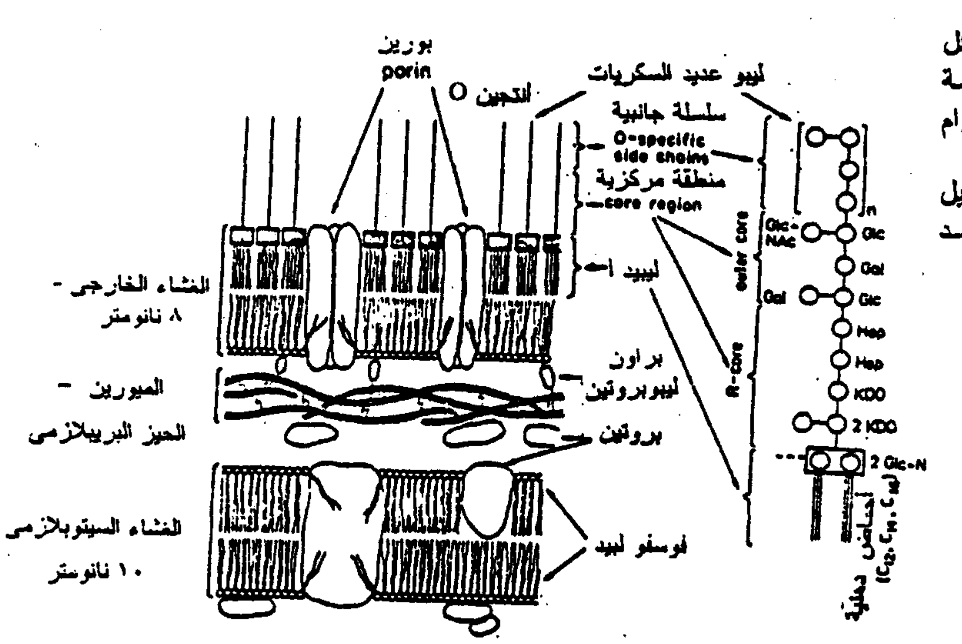
شكل ٥ (٢) - ٩ : رسم تخطيطى لجدر بكتريا حقيقية كما ظهرت بالمجهر الالكترونى

A : بكتريا موجبة لصبغة جرام
لاحظ أن الجدار الخلوى سميك ويتكون أساسا من الببتيدوجلوكان
B : بكتريا سالبة لصبغة جرام
لاحظ وجود غشاء خارجى Outer membrane متموج يغطى طبقة الببتيدوجلوكان الرقيقة نسبيا بجدار الخليـة

الغشاء الخارجى للميورين

ويصل سمك الغشاء الخارجي للميورين لحوالى ٨ نانومتر ، ويفصل بينه وبين الميورين طبقة من فوسفولبيدات، سمكها حوالى ٥-٧ نانومتر ، ويربط الغشاء الخارجى بالميورين ، جزيئات من الليبوبروتين تسمى Braun's lipoprotein [شكل ٥ (٢) - ١٠] .

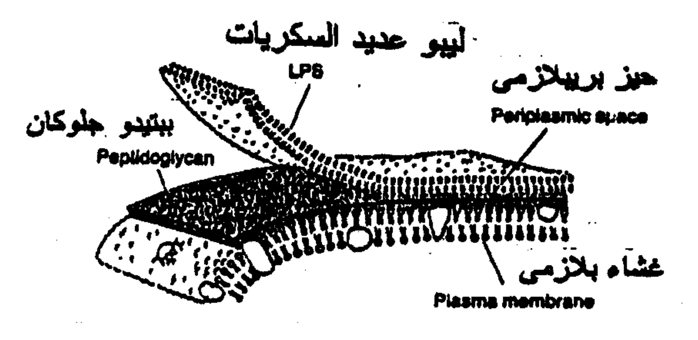
والغشاء الخارجى ذو طبقتين Bilayered وهو يتكون من بروتينات وفوسفوليبيدات وليبو عديد السكريات Lipopolysaccharide (LPS) [شكل ٥ (٢) - ١١] ، وبسبب هذا الغشاء ، فإن جدار البكتريا السالبة لصبغة جرام غنى باللبيدات ، عن البكتريا الموجبة لصبغة جرام (تمثل اللبيدات حوالى ٢٠% من الوزن الجاف للجدار) ، وإلى تركيب الليبو عديد السكريات (LPS) ، تعود الخواص السامة المعروفة بالتوكسينات الداخلية Endotoxins ، فى بعض الأنواع البكتيرية السالبة لصبغة جرام ، مثل السالمونيلا والشيجيلا .



شكل ٥ (٢) - ١٠ : شكل تخطيطى لأغلفة خلية بكتيرية سالبة لصبغة جرام

على يمين الشكل تفاصيل تركيب الليبو عديد السكريات

Glc : جلوكوز
Gal : جالاكتوز
Hep : هبتوز
KDO : ٢ كيتو-٣ دى أكسى اوكتانات
Glc-N : جلوكوز أمين
Glc-NAc : جلوكوز - استايل جلوكوز امين



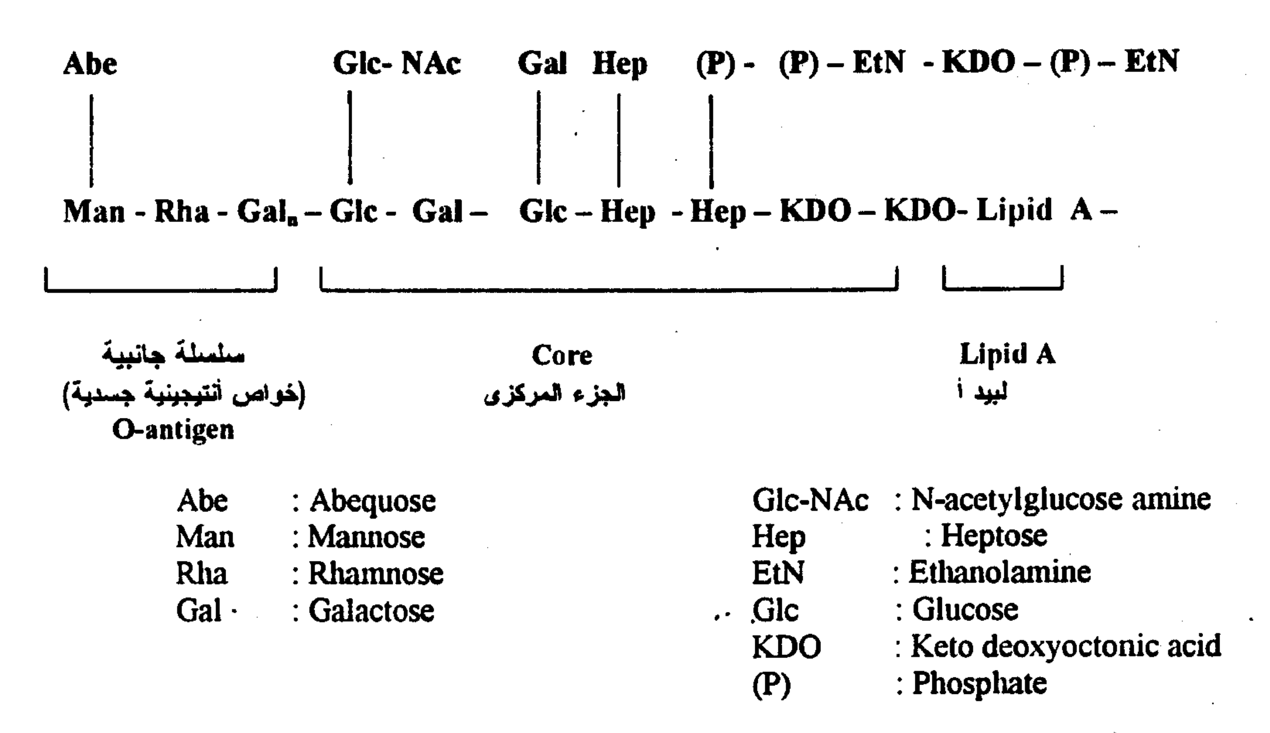
شكل ٥ (٢) - ١١ : العلاقة بين طبقة ليبو عديد السكريات Lipopolysacharide (LPS) ، وطبقة الببتيدوجلوكان ، والغشاء السيتوبلازمى فى البكتريا السالبة لصبغة جرام .

يتركب الليبو عديد السكريات (LPS) الموجود بالغشاء الخارجى من ثـلاث مكونـات رئيسية [شكل ٥ (٢) - ١٢] ، ترتبط مع بعضها بروابط تكافؤية ، وهذه المكونات هى

١ - ليبيدات تعرف بـ Lipid A ، وهى مطمورة فى الغشاء الخارجى ، ويتركب Lipid A من جلوكوز أمين مؤستر مع أحماض دهنية ، وهذه تتكون من سلاسل ، ذات عدد ذرات مـن الكربون C_{12} ، C_{14}, C_{16} .

٢ - جزء مركزى من عديد السكريات Polysaccharide core ويقع قـرب سـطح الغشـاء ، وتركيب هذا الجزء ثابت داخل أفراد النوع الواحد ، ولكنه يختلف فى التركيب مـن جنس بكتيرى لآخر .
ويدخل في تركيب هذا الجزء : جلوكوز وجالاكتوز وهبتوز واسيتايل جلوكوز أمين وكيتـو دى أوكسى أوكتانات .

٣ -سلسلة جانبية من عديد السكريات Polysaccharide side chain ، لها خـواص أنتجينيـة جسدية O-antigens .
تمتد هذه السلسلة الجانبية كشعيرات Whiskers من سطح الغشاء إلـى الوسـط الخـارجى المحيط بالخلية ، وتختلف مكونات هذه السلسلة من نوع بكتيرى لآخر ، بل ومـن سـلالة لأخرى .
وإلى هذه السلسلة الجانبية ، تعود أغلب الخواص السيرولوجية للبكتريا السالبة لصبغة جرام (مثل السالمونيلا والأشريشيا والرايزوبيا ... الخ) ، كما تعمـل هـذه السلسـلة كمسـتقبل للفاجات .



شكل ٥ (٢) - ١٢ : تركيب الليبو عديد السكريات Lipopolysaccharide, LPS فى جـدار بكتريـا *Salmonella typhi* .

البوريـنـــات : Porins

تقع البورينات بالغشاء الخارجى للميورين ، وتمتد من منطقة Lipid A إلــى منطقــة الميورين . والبورينات عبارة عن بروتينات خاصة ، تحتوى على قنوات دقيقة ، تسمح بنفــاذ بعض المــواد ذات الجزيئـــات الصغــيرة ، كالسـكريات والأحمــاض الأمينيــة والببتيــدات والنيوكليوسيدات ، كما أن البورينات تعمل كمستقبلات ، تلتصق بها الفاجات والبكتريوسينات .

الحيز البريبلازمى : Periplasmic space

يوجد الحيز البريبلازمى بالبكتريا السالبة لصبغة جرام ، وهو يقع بين الببتيدوجلوكـــان والغشاء السيتوبلازمى للخلية البكتيرية ، ويحتوى الحيز البريبلازمى على نســبة مرتفعــة مــن البروتينات ، مثل السيتوبلازم ، كما يحتوى على مجموعة من الانزيمات ، مثل بعض انزيمـــات Depolymerases ، ومثل تلك الانزيمات المحللة للجلوكوز والإيثانول ، أو التــى تســاعد فــى تفاعلات المجاميع غير العضوية ، مثل SO_4^{-2} & NO_3^{-1} .

الشحنه الكهربائية لسطح الخلية الخارجى

عندما تتواجد البكتريا فى وسط متعادل ، فإن شحنة سطحها الخارجى تكــون ســالبة ، ويمكن معرفة ذلك من تحرك الخلية البكتيرية ناحية القطب الموجب (الأنــود) ، إذا مــاوضعت الخلايا فى وسط ذو مجال كهربائى ، وتعرف خاصية التحرك هذه ، بخاصية التفريد الكــهربائى Electrophoresis ، وتختلف سرعة التحرك بإختلاف أنواع الجزيئات المتحركة ، ويستفاد من هذه الخاصية ، فى فصل وتعريف بعض المكونات البيولوجية .

الشحنة السالبة الموجودة على السطح الخارجى للخلية البكتيرية ، هى محصلة تفـــاعل المواد الأمفوتيرية المكونة لسطح خلية البكتريا ، مع مواد الوسط ، فلتلك المـــواد الأمفوتيريــة (مثل الأحماض الأمينية التى تحمل مجموعات حامضية COOH ، وأخرى قاعدية NH_2) ، نقطة تعادل كهربائية Isoelectric point ، عندها تتعادل شحناتها الكهربائية السالبة والموجبة ، وتقــع هذه النقطة فى الجانب الحامضى ، عند ق يد حوالى ٣ الى ٥ .

وعند وجود البكتريا فى وسط متعادل أو قاعدى ، فإن القواعـــد الموجــودة بالوســط (مثل Na) تتفاعل مع كربوكسيل المركبات الأمفوتيرية الموجودة بسطح الخلية ، مكونة أمــلاح (مثل COO Na–) ، وعندما يتأين الملح تنفرد مجموعة COO^- السالبة الشحنة ، مكسبة الســطح الخلوى البكتيرى شحنة سالبة .

ويعرف فرق الجهد الكهربائى بين مكونات السطح الخارجى للخلايا البكتيرية ، وبيــن مكونات محلول البيئة ، بفرق جهد زيتا Zeta (ζ) potential ، وخلايا البكتريا التى لها جهد زيتا قليل ، أى حوالى ١٥ ملليفولت ، تميل الى التجمع مع بعضها ، أما الخلايا البكتيرية التــى لــها فرق جهد كبير ، حوالى ٢٥ ملليفولت ، فإنها تتنافر مع بعضها ، ولاتميل الى التجمع ، لأن هذه الخلايا تحمل شحناتا كهربائية عالية ، تزيد من شدة التنافر بينها ، مما يقلل من قدرتـــها علــى التجمع .

جدر خلايا البكتريا وجدر خلايا الكائنات الأخرى

بمقارنة تركيب الجدر الخلوية البكتيرية ، بجدر خلايا الكائنات الأخرى حقيقية النـواة ، سنلاحظ الآتى

١ – تتكون جدر خلايا النباتات الراقية والطحالب الخضراء ، أساسا من السـكريات المعقـدة ، ويسود السليلوز فى جدر خلايا النباتات ، ويسود البكتين والسليلوز فى جدر خلايا الطحالب.

٢ – تسود السكريات المعقدة فى جدر خلايا الفطريات ، وتمثل حوالـى ٨٠ إلـى ٩٠% مـن تركيب جدارها ، وتتضمن تلك السكريات المعقدة الكيتين والسليلوز والمانان والجلوكـان ، ويعتبر الكيتين هو المكون الأساسى بجدر معظـم خلايـا الفطريـات الزقيـة والبازيديـة والناقصة ، بينما يسود السليلوز فى جدر خلايا الفطريات الطحلبية ، وتحتوى جـدر خلايـا الخمائر على نسبة قليلة من الكيتين ، وعلى نسبة مرتفعة من المانان والجلوكان .

٣ – أما البروتوزوا فإنها بدون جدر خلوية .

أهمية الجدار الخلوى للبكتريا

الجدار الخلوى ضرورى لحياة الخلية البكتيرية الحقيقية ، فالخلايا التـى أزيـل منـها الجدار الخلوى ، أصبحت غير قادرة على النمو والانقسام ، وفى بعض الحالات قد لاتفقد الخليـة حيويتها نتيجة لفقد جدارها ، ولكنها تصبح شديدة الحساسية للظروف البيئيـة المحيطـة بـها ، خاصة التغير فى الضغط الأسموزى .

ونظرا لصلابة جدار الخلية البكتيرية ، فإن الجدار يحفـظ للخليـة البكتيريـة شـكلها الكروى أو العصوى أو الحلزونى المميز لها ، كما أن الجدار يحمى الخلية من الظروف البيئيـة السيئة ، ومن الكيميائيات الضارة ، ومن مهاجمة الكائنات الدقيقة .

ويساعد جدار الخلية البكتيرية على تحمل الإختلافات فى الضغوط الأسموزية الواقعـة بين محتوى الخلية والوسط الذى تعيش فيه ، وبذلك فإن الجدار يحمى الخلية من البلزمة نتيجـة الانكماش الأسموزى Plasmolysis ، ومن الانفجار نتيجة الانتفاخ الأسموزى Plasmoptysis.

ويتحكم الجدار الخلوى إلى حد ما فى نوع الجزيئات الماره من خلال ثقوبه تبعا لحجـم تلك الجزيئات ، وهو تحكم يشبه عمل الغربال أكثر مما يشبه عمل الغشـاء ، إذ ليـس للجـدار خاصية النفاذية الاختيارية التى للغشاء السيتوبلازمى .

والجدار الخلوى مسئول (مع الغشاء السيتوبلازمى) عن إيجابية وسالبية الصبغ بصبغـة جرام ، وعن خاصية الصمود للصبغ الحامضى ، كما أن الجـدار مسـئول عـن التوكسـينات الداخلية التى تكونها بعض أنواع البكتريا ، كما يستفاد من خواص الجدار الأنتجينية فى التميـيز السيرولوجى بين بعض السلالات والأنواع المرضية كبكتريا السالمونيلا .

الغشاء السيتوبلازمى : Cytoplasmic membrane

الغشاء السيتوبلازمى يلى الجدار الخلوى بالخلية ، (فى البكتريا التى لها جدار خلــوى) ويحيط بالسيتوبلازم ، وسمكه ضئيل جداً ، حوالى ١٠ نانومتر ، ويمثل حوالى ١٥% من الوزن الجاف للخلية ، ويتركب أساسا من الفوسفولبيدات والبروتين .

الصبـــغ

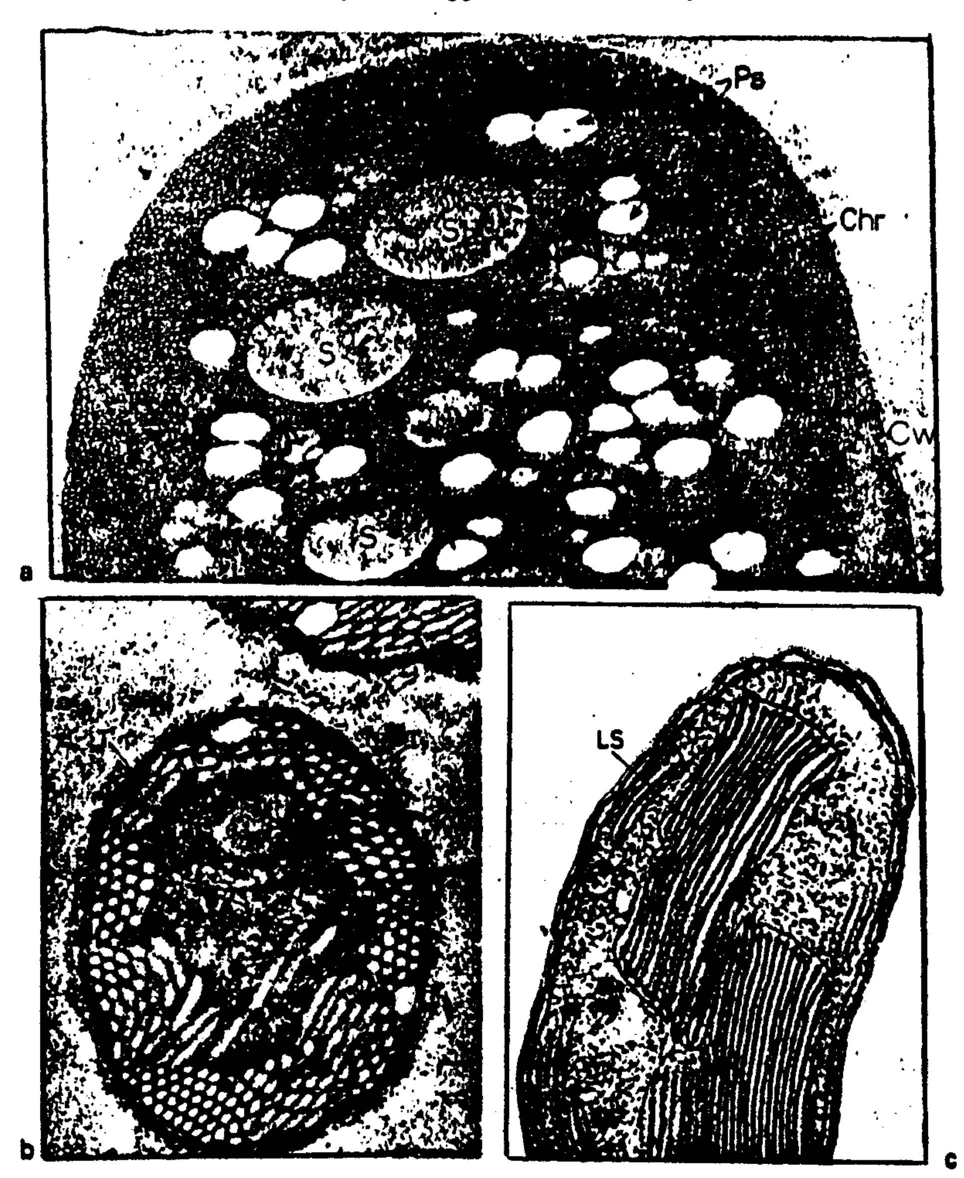
الغشاء السيتوبلازمى حامضى التأثير ، لإحتوائه على نســبة عاليــة مــن الأحمــاض النووية ، ولذلك فإن قابليته عالية للصبغ بالصبغات القاعدية ، مثــل صبغــة الجنســيان وأزرق المثيلين ، كما أنه يسهل صبغه بالصبغات التى تذوب فى الدهون ، مثل صبغة سودان بـــلاك ، وذلك بسبب إحتواء الغشاء على نسبة عالية من الدهون .

والغشاء السيتوبلازمى مسئول (مع الجدار الخلوى) عن الصبغ بطريقة جرام ، حيــث أن الخلايا البكتيرية الموجبة لصبغة جرام ، يحتوى غشاؤها السيتوبلازمى ، على مركب معقــد من كربوهيدرات وبروتينات مع ملح رايبونيوكليات المغنسيوم ، ويتحد هــذا المركــب بــاليود المضاف أثناء عملية الصبغ بجرام ، ويتم الإتحاد عن طريــق روابــط الســلفيدريل الموجــودة بالبروتين ، وينتج مركب معقد يتفاعل مع صبغة الجنسيان ويثبتها بالخلية .

إنغلافات ومحتويات الغشاء السيتوبلازمى

يظهر الغشاء السيتوبلازمى فى تحضيرات المجهر الإلكترونى على أنه ليــس غشــاءاً بسيطاً ، ، إذ يحتوى الغشاء على مجموعة من الانحناءات والانثناءات ، فــى صــورة أنــابيب دقيقة ، أو حزم فى طبقات ، أو حويصلات ، أو أوعية ، منطوية على بعضــها ، داخلــه فــى السيتوبلازم ، وتسمى بالإنغلافات Invaginations .

وتختلف أشكال الإنغلافات ، وكمياتها ، ومدى تعمقها بالسيتوبلازم بإختلاف الأنـــواع البكتيرية ، [شكل ٥ (٢) - ١٣] وعموما ، فإن هذه الانغلافات تكــثر فــى البكتريــا الممثلــة للضوء ، وفى البكتريا التى تستخدم غازات فى غذائها ، مثل البكتريا المؤكسدة لغـــاز الميثــان والبكتريا الأوتوتروفية كيميائية الطاقة .



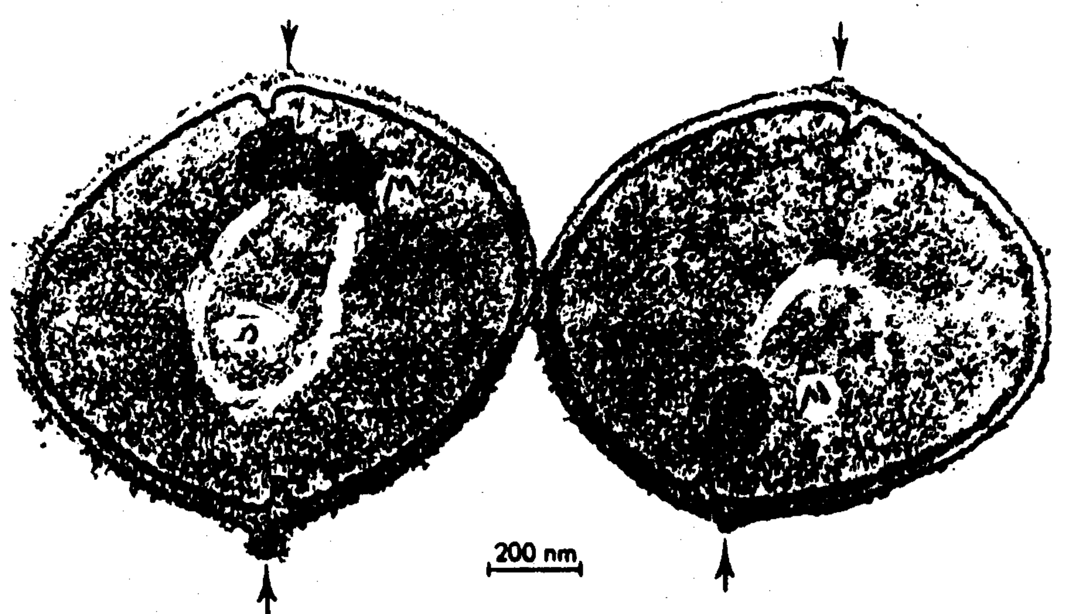
شكل ٥ (٢) – ١٣ : أشكال انغلافات الغشاء السيتوبلازمى المحتوية على الصبغات الضوئية ، فى البكتريا الأرجوانية ، الممثلة للضوء .

a : الانغلافات على شكل حويصلات Vesicles فى بكتريا *Chromatium okenii* .
b : الانغلافات على شكل أنابيب Tubules ، فى بكتريا *Thiocapsa pfennigii* .
c : الانغلافات على شكل حزم متراصة فى طبقات ، فى بكتريا *Ectothiorhodospira mobilis* .

Ps : حبيبات عديدة السكريات Polysaccharide granules .
Chr : حاملات الصبغات Chromatophores
CW : جدار خلوى
S : حبيبات كبريت Sulfur droplets
LS : حزم فى طبقات Lamellar stacks .
T : انغلافات أنبوبية

وهذه الإنغلافات بالإضافة إلى أنها تزيد من السطح العام للغشاء السيتوبلازمى ، فيزداد مجال نشاطه الأيضى ، فإنها تحتوى أيضاً على مجموعة من التركيبات والانزيمات الضرورية لحياة الخلية ، ولذا فإن هذه الانغلافات بما تحتويه من مواد حيوية ، تحل محل العضيات ذات الأغشية التى توجد بخلايا الكائنات الأخرى حقيقية النواه ، مثل الميتوكوندريا والكلوروبلاست ، والشبكة الاندوبلازمية والبلاستيدات ، حيث أن الخلايا البكتيرية لايوجد بها أمثال هذه العضيات.

فبعضا من هذه الإنغلافات ، يكون مايعرف بالميسوسوم ، وهذه منها ماهو ميسوسوم مركزى Central mesosome ، يقع فى منتصف الخلية ، ويمتد بعمق فى السيتوبلازم حتى يتصل بمادة الخلية النووية ، ويعتقد أن الميسوسوم المركزى يلعب دورا فى تضاعف الدنا ، وفى انقسام الخلية [شكل ٥ (٢) - ١٤] ، وفى بناء الأغشية ، وفى تكوين الجدر الخلوية الجديدة .



شكل ٥ (٢) - ١٤ : قطاع فى البكتريا الموجبة لصبغة جرام *Streptococcus faecalis* يوضح بداية انقسام الخلية (عند الأسهم) .

لاحظ وجود الميسوسوم المركزى (m) بكل خلية ، مجاورا لمادة الخلية النووية (n) التى تبدو أفتح قليلاً .

ومنها ماهو ميسوسوم محيطى Peripheral mesosome ، وهذه توجد موزعة على محيط الغشاء ، ولاتتعمق فى السيتوبلازم ، ولاترتبط بمادة الخلية النووية ، ويعتقد أن الميسوسوم المحيطى يساعد على خروج بعض الانزيمات الخارجية إلى خارج الخلية ، كانزيم البنسلينيز .

وفى البكتريا المؤكسدة لغاز الميثان ، والممثلة للضوء ، وفى كثير من البكتريا الأوتوتروفية كيميائية الطاقة ، فإن هذه الانغلافات تعمل على زيادة المسطح الغشائى القائم بالأنشطة الأيضية ، مثالا على ذلك مايحدث فى البكتريا الممثلة للضوء ، حيث تحتوى انغلافات

الغشاء السيتوبلازمى على جهاز التمثيل الضوئى (الكلوروفيل البكتيرى ، الكاروتينويدات ، النظام الناقل للألكترونات ، إنزيمات الفسفرة ...) ، مهيئه تلك الانغلافات بذلك ، مسطحاً متسعاً للتفاعلات الضوئية . وتعرف هذه الانغلافات بحاملات الصبغات Chromatophores ، وهى التى تحل محل تركيب الكلوروبلاست Chloroplast الموجود بخلايا حقيقيات النواة .

أما فى السيانوبكتريا ، وهى أيضا بكتريا ممثلة للضوء ، فإن أغشية خاصة بين خلوية Intracellular ، مسطحه الشكل ، هى التى تحتوى على صبغات التمثيل الضوئى ، وتعرف هذه الأغشية بالثيلاكويدات Thylakoids ، وتوجد الثيلاكويدات بهذه الخلايا ، متعمقة فى السيتوبلازم وتتصل بالغشاء السيتوبلازمى فى أماكن محددة .

ومن الإنزيمات التى توجد بالانغلافات ، إنزيمات التنفس الحيوى ، الخاصة بالأكسدة والإختزال والفسفرة وإنطلاق الطاقة ، وتحل هذه الانغلافات ، محل تركيب الميتوكوندريا الموجودة بخلايا حقيقيات النواة ، كما توجد بالانغلافات الانزيمات الخاصة بتخليق مكونات العلبة (الكابسول) ، ومكونات الجدار الخلوى .

الناقلات : Permeases

يحتوى الغشاء السيتوبلازمى على مايعرف بالناقلات Permeases ، وقد تسمى أيضا بالحاملات Carriers; Porters ، والناقلات بروتينية التركيب ، مستحثة التكوين ، تعتمد فى نشاطها على وجود مجموعة (SH) فى تركيبها ، ويثبطها مركبات الزئبق ومضاد الكلورامفنيكول ، وهى مسئولة عن نقل بعض العناصر الغذائية والمواد الإخراجية ، عبر الغشاء السيتوبلازمى ، إلى داخل الخلية ، أو إلى خارجها .

وأعداد الناقلات كبير ، فقد تصل أعدادها فى غشاء بكتريا *E. coli* ، على سبيل المثال الى حوالى ٦٠ نوعاً ، وهى تقوم بنقل مختلف الأيونات والسكريات والأحماض الأمينية ... وغيرها من المواد .

ويطلق على الانتقال بواسطة الناقلات ، الإنتقال الإيجابى ، وهو يضم كل من الإنتشار الميسر Faciliated diffusion ، والانتقال النشط Active transport .

وتتميز الناقلات بأنها

* متخصصة فى عملها كالانزيمات ، حيث أن لكل نوع من أنواع الجزيئات المنقولة ، الناقل المتخصص لنقلها ، الذى يستطيع أن يرتبط بالجزىء وينقله عبر الغشاء السيتوبلازمى . وعقب نقل المادة ، فإن الناقل ينفصل من المادة المنقولة ، ويعود إلى حالته الأولى ، ويكرر عملية الانتقال .
* تختلف الناقلات عن الانزيمات ، فى أن الناقلات تنقل المادة من مكان لآخر ، دون أن تحولها من صورة لأخرى .
* لاتعمل الناقلات إلا فى الأغشية الحية ، بخلاف الانزيمات التى يمكن أن تعمل أيضا فى أنبوبة الإختبار .

تركيب الغشاء السيتوبلازمى

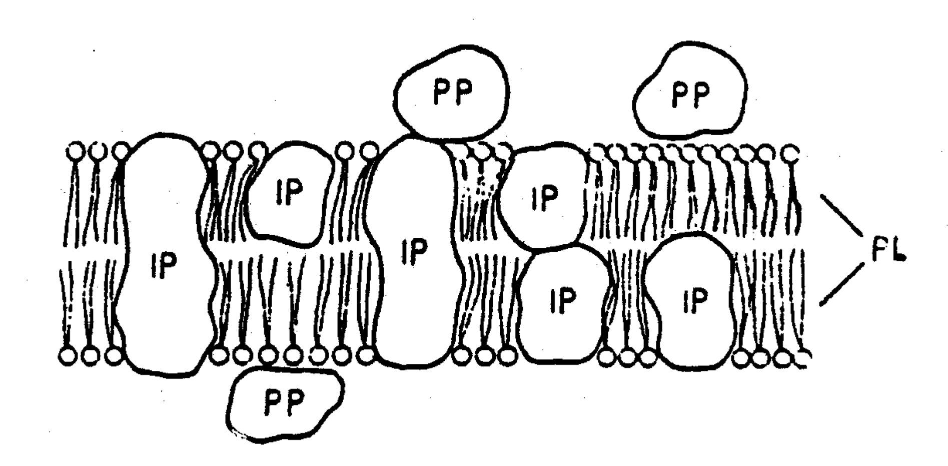
يظهر الغشاء السيتوبلازمى البكتيرى فى تحضيرات المجهر الإلكترونى ، بأنه ثلاثى الطبقات ، حيث توجد طبقة شفافة من الفوسفولبيدات سمكها حوالى ٤-٥ نانومتر ، تقع بين طبقتين رقيقتين من البروتين معتمتين محبتين للضغط الأسموزى المرتفع ، وسمك كل طبقة منهما حوالى ٢-٣ نانومتر .

ويتركب الغشاء السيتوبلازمى [شكل ٥ (٢) - ١٥] أساساً من

١ - الفوسفوليبيدات ، وهى طبقة مزدوجة Bilayer ، وتشكل حوالى ٢٠-٣٠% من التركيب الجاف للغشاء .

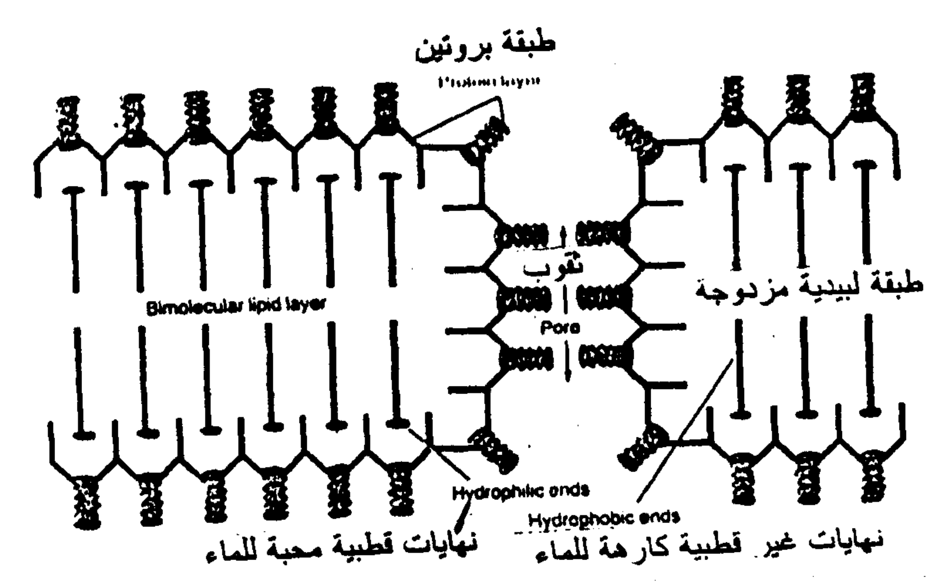
٢ - البروتين وهذا يشكل حوالى ٦٠-٧٠% .

٣ - مواد كربوهيدراتية معقدة ، تشكل حوالى ٢ - ٥% ، وهى مرتبطة ببروتينات كما فى الجليكوبروتينات ، أو مرتبطة بلبيدات كما فى الجليكولبيدات . كما يحتوى الغشاء على مواد معقدة مرتبطة بحامض الرنا RNA .

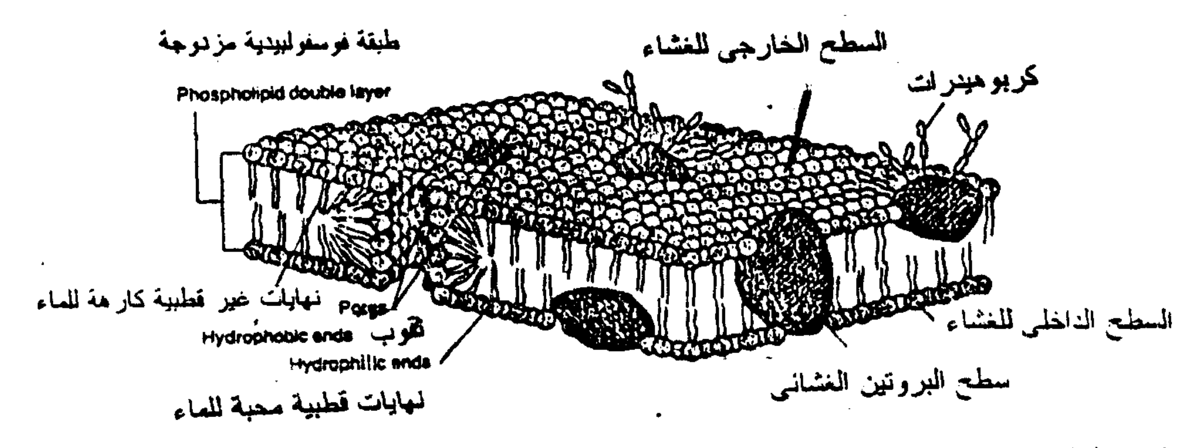


شكل ٥ (٢) - ١٥ : شكل تخطيطى لتوضيح تركيب الغشاء السيتوبلازمى بالبكتريا
تكون الفوسفولبيدات (PL) طبقة مزدوجة ، حيث تتجه المجاميع القطبية (الدوائر) إلى الخارج ، وتتجه المجاميع غير القطبية (الذيول) الى الداخل .
IP : بروتين التكامل Integral protein
PP : بروتين محيطى Peripheral protein

وحسب النموذج الموزاييكى Fluid mosaic membrane model ، لتركيب الغشاء السيتوبلازمى ، الذى وضعه كل من Singer and Nicolson, 1972 [شكلى ٥ (٢) - ١٦ ، ٥ (٢) - ١٧] فإن تركيب الغشاء تركيب ديناميكى ، وأن مكوناته فى حركة مستمرة ، تتبادل فيها الأماكن بطريقة تسمح ببقاء وتركيب الغشاء دون حدوث خلل بها . وأن بعض جزيئات البروتين الموجودة بالغشاء ، توجد كوحدات منفصلة ، ممتدة بعرض طبقة الفوسفولبيدات ، وتتحرك بسهولة فى وسادة من اللبيدات .



شكل ٥ (٢) - ١٦ : شكل تخطيطى للطبقات المكونة للغشاء السيتوبلازمى البكتيرى .
لاحظ وجود طبقتين من الفوسفولبيدات محصورتين بين طبقتين من البروتين .



شكل ٥ (٢) - ١٧ : الشكل الموزاييكى للغشاء السيتوبلازمى البكتيرى ، لاحظ

- وجود طبقة فوسفولبيدية مزدوجة ، ذيولها غير القطبية الكارهة للماء متجهة للداخل ، ورؤوسها القطبية المحبة للماء متجهة للخارج .
- الثقوب الموجودة بالغشاء ، وتتشكل هذه الثقوب بتحرك وإعادة ترتيب الجزء اللبيدى .
- البروتين السابح فى الطبقة اللبيدية
- الكربوهيدرات المتصلة بالبروتين

بروتينات الغشاء السيتوبلازمى

يمكن تمييز نوعين من البروتين بالغشاء السيتوبلازمى [شكل ٥ (٢) - ١٨] .

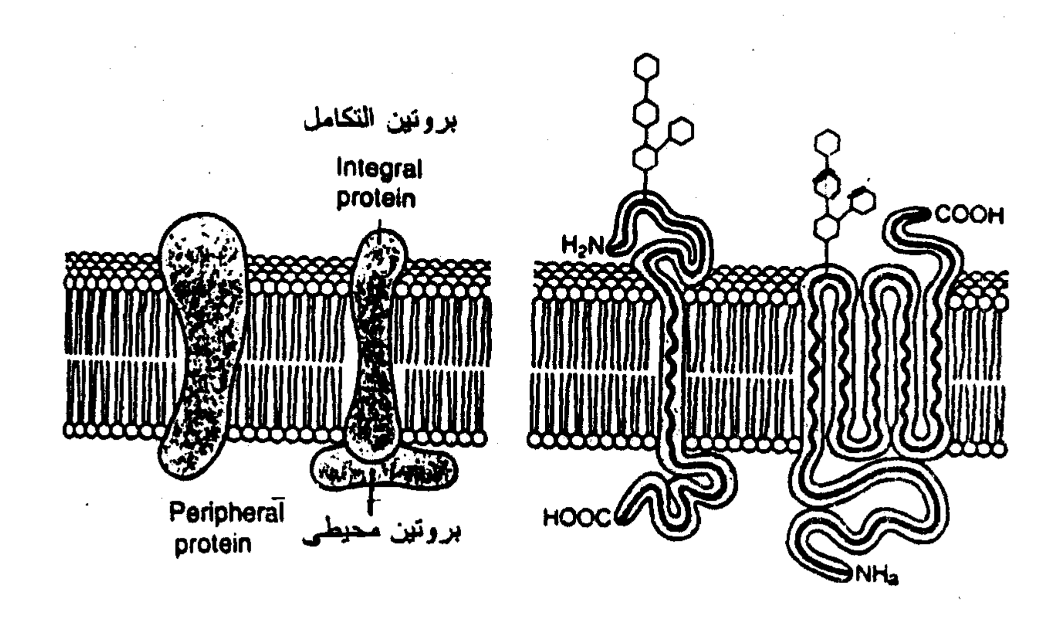
١ - بروتين محيطى : Peripheral protein

يحيط هذا البروتين بالفوسفوليبيد كطبقة رقيقة ، وهو غير قوى الارتباط بـه ، ويمكن إزالة البروتين المحيطى بسهولة من الغشاء ، بتعريض الخلية لصدمة أسموزية معتدلة .

٢ - بروتين التكامل : Integral protein

يمثل هذا البروتين أغلب بروتينات الغشاء ، ويوجد متماسكا بقوة بمنطقة الفوسفوليبيدات ، وهذه البروتينات من الصعب إزالتها من الغشاء ، إلا بتكسير الغشاء ، كما فى حالة المعاملة بالمنظفات .

وبمساعدة بروتينات التكامل ، تتم عملية إنتقال المواد عبر الغشاء السيتوبلازمى ، من وإلى الخلية .



شكل ٥ (٢) - ١٨ : نموذج للغشاء السيتوبلازمى البكتيرى ، لاحظ
- بروتين التكامل منغمس فى الطبقة الليبيدية
- البروتين المحيطى يوجد على سطح الغشاء
- السلاسل عديدة السكريات المتصلة بالسطح الخارجى للغشاء ، موضحة بأعلى الشكل .

فوسفولبيدات الغشاء السيتوبلازمى

تشكل لبيدات الغشاء ، وهى موجودة فى الفوسفولبيدات ، حوالى ٧٠-٨٠% من المحتوى اللبيدى الموجود بالخلية البكتيرية ، رغم أن الفوسفولبيدات لاتشكل إلا حوالى ٨-١٥% من الوزن الجاف للخلية .

ويوضح جدول [٥ (٢) - ٢] تركيب الغشاء السيتوبلازمى لبعض أنواع البكتريا .

جدول ٥ (٢) - ٢ : تركيب الغشاء السيتوبلازمى لبعض أنواع البكتريا .

المكونات	نسبة مئوية من الوزن الجاف للغشاء	
	بكتريا ارجوانية	*Micrococcus luteus*
لبيدات	٤٠-٥٠	٢٨-٣٧
متعادلة	١٠-٢٠	٩
فوسفولبيدات	٣٠	٢٨
بروتينات	٥٠	٥٠
سكريات سداسية	١٥-٢٠	٢٥-٢٠

تُكوّن الفوسفولبيدات طبقة مزدوجة بالغشاء السيتوبلازمى ، ويتضمن الفوسفولبيد مجموعة غير قطبية Non-polar ، تعرف بالذيل Tail ، هى سلسلة من الأحماض الدهنية ، وهذه السلسلة متصلة عبر الجلسرول بمجموعة قطبية Polar ، تعرف بالرأس Head ، تتكون من استر فوسفات .

وفى الطبقة المزدوجة للفوسفولبيدات ، فإن سلاسل الهيدروكربونات غير القطبية الكارهة للماء Hydrophobic (الذيول) تتجه إلى الداخل ، بينما تتجه الرؤوس القطبية المحبة للماء Hydrophilic إلى الخارج ، وهذا الشكل البنائى يساعد الفوسفولبيد على القيام بوظيفته فى النفاذية ، كما أن خاصية السيولة Fluidity التى يتميز بها الجزء اللبيدى المكون للغشاء ، تسمح لمكونات الغشاء من الدوران حول نفسها والتحرك جانبيا ، وهذه الخاصية (السيولة) ضرورية أيضا لعمل الغشاء ، وتعتمد السيولة على مجموعة من العوامل منها درجة الحرارة ، ونسبة الأحماض الدهنية غير المشبعة إلى الأحماض الدهنية المشبعة الداخلة فى تركيب الفوسفولبيدات .

وإذا ماقمنا بمزج الفوسفولبيد مع الماء ثم تركناه لفترة ، فإنه يستعيد الشكل الغشائى ثانية ، وهذا الشكل الغشائى للفوسفولبيدات ، هو الذى يساعد الغشاء السيتوبلازمى على التحكم فى حركة الماء وغيره من المواد ، على جانبى الغشاء . وبسبب هذه الخاصية ، فإننا لو تصورنا بأننا قمنا بثقب الغشاء بآلة حادة ، فإنه بمجرد نزع الآلة ، فإن الغشاء يلتحم ثانية . وتساعد هذه الخاصية فى المحافظة على الشكل المتكامل للغشاء ضد العوامل الميكانيكية .

تختلف أنواع الفوسفولبيدات الداخلة فى تركيب الغشاء السيتوبلازمى بإختلاف أنواع البكتريا ، فبينما يكون Phosphatidyl ethanolamine ، هو المركب الأساسى بالفوسفولبيد فى بكتريا فصيلة Enterobacteriaceae ، فإنه توجد أنواع أخرى عديدة من الفوسفولبيدات التى توجد فى البكتريا الأخرى ، منها

Phosphatidyl-ethanolamine, Phosphatidyl-glycerol, Phosphatidyl-inositol, Phosphatidyl-ornithine, Phosphatidyl serine, ... etc.

ويتراوح طول سلسلة الحامض الدهنى بالفوسفولبيد بين ٨ الى ١٩ ذرة كربون ، وأكثر الأحماض شيوعا بالسلسلة ، هى تلك التى يتراوح عدد ذرات الكربون بسلسلتها من ١٥-١٨ ذرة كربون .

وتختلف نوعية الأحماض الدهنية الموجودة بالسلسلة بإختلاف الأنواع البكتيرية ، ففى البكتريا الموجبة لصبغة جرام ، فإنها تحتوى على سلاسل من أحماض دهنية مشبعة ، بينما تحتوى البكتريا السالبة لصبغة جرام ، على سلاسل لخليط من أحماض دهنية مشبعة وغير مشبعة . وترتبط نسبة كل منهما بالآخر ، بدرجة الحرارة التى تنمو عليها البكتريا ، فكلما زادت نسبة الأحماض المشبعة بالفوسفولبيد ، كلما زادت قدرة البكتريا على تحمل الحرارة المرتفعة ، بينما نجد فى البكتريا المحبة للحرارة المنخفضة ، أن أغلب الأحماض الدهنية بها غير مشبعة حتى لاتتجمد أغشيتها وتتحطم الخلايا وتموت ، أما البكتريا المحبة للحرارة المتوسطة ، فإن نسبة مابها من الأحماض الدهنية المشبعة إلى غير المشبعة ، تكون بنسبة ١:١ تقريبا .

إضافة إلى ماسبق فإن الغشاء السيتوبلازمى البكتيرى ، يتميز بخلوه من الاسترولات* Sterols ، وذلك فيما عدا مجموعة بكتريا المايكوبلازما ، التى يحتوى غشاؤها السيتوبلازمى على كولسترول ، (وهو أحد أنواع الاسترولات) .

وتختلف اللبيدات الموجودة فى الغشاء السيتوبلازمى ببدائيات النواه ، عن تلك اللبيدات الموجودة بأغشية خلايا حقيقيات النواة ، حيث تتميز لبيدات أغشية بدائيات النواة ، بأنها تحتوى على أحماض دهنية متفرعة السلسلة ، وأن السلاسل أقصر طولا ، وأقل تشبعا ، مقارنة مع حقيقيات النواه ، وأنها فى بدائيات النواة تحتوى على بروبان حلقى Cyclopropane ، كما يندر وجود الليسيثين Lecithin فى لبيدات بدائيات النواة .

الغشاء السيتوبلازمى فى بكتريا الأركيو والبكتريا الحقيقية

يختلف غشاء بكتريا الأركيو عن غشاء البكتريا الحقيقية فى بعض مكوناته ، ولعل من الفروقات الأساسية ، هو تركيب منطقة الفوسفولبيدات فى كلا النوعين من البكتريا .

---

* الاسترولات Sterols ، هى أحد أقسام اللبيدات ، التى تتميز بأنها ذات تركيب حلقى مكثف ، وقد يصل عدد ذرات الكربون بها الى ٣٠ ذرة كربون أو أكثر .

ففى حالة البكتريا الحقيقية ، فإن الفوسفولبيدات عبارة عن فوسفوجلسريدات Phosphoglycerides ، وبها السلاسل المستقيمة للأحماض الدهنية Straight-chain fatty acids ، مرتبطة بروابط استر Ester-linked مع الجلسرول [شكل ٥ (٢) - ١٩] ، بينما فى حالة الأركيو بكتريا ، فإن الفوسفولبيدات عبارة عن سلاسل متفرعة من بولى ايسو برينويد Polyisoprenoid branched-chain lipids ، وترتبط السلاسل المتفرعة للفايتانولات Phytanols، بروابط اثيرية Ether-linked مع الجلسرول [شكل ٥ (٢) - ١٩] ، وروابط الاثير أقوى من روابط الاستر ، مما يزيد من قوة بكتريا الأركيو على تحمل تأثير الحرارة والضوء المرتفع .

جلسرول — احماض دهنيه

A

جلسرول — فيتانولات

B

شكل ٥ (٢) -

A : فوسفولبيد فى غشاء سيتوبلازمى لبكتريا حقيقية ، موضحا لتركيب سلسلتين طويلتين غير متفرعتين من الأحماض الدهنية ، مرتبطة بروابط استر مع الجلسرول .

B : فوسفولبيد فى غشاء سيتوبلازمى لبكتريا الأركيو ، موضحا لتركيب سلسلتين متفرعتين من سلاسل الفيتانول ، مرتبطة بروابط اثيرية مع الجلسرول .

كربوهيدرات الغشاء السيتوبلازمى

تشكل الكربوهيدرات حوالى ٢-٥% من التركيب الجاف للغشاء السيتوبلازمى ، ومنها ماهو مرتبط بالبروتين ليكون جليكوبروتينات Glycoproteins ، أو مرتبط بلبيــــدات ، ليكــون جليكولبيدات Glycolipids .

ولكلا النوعين (الجليكوبروتينات والجليكولبيدات) ، دور فى التحكم فى حركة المـــواد عبر الغشاء السيتوبلازمى من خلال عملية الابتلاع Endocytosis ، التى تتضمن إحاطة المـــادة الداخلة إلى الخلية بما يشبه الغشاء ، مكونة فجوة غذائية . وبعد إبتــلاع المـــادة تفــرز الخليـــة انزيمات على تلك المادة ، لهضمها وإمتصاصها .

والابتلاع على نوعين

١ - الالتقام (البلعمة) Phagocytosis

وفى هذه العملية يقوم الكائن بابتلاع جزيئات كبيرة الحجم ، كما يحدث فى الالتقام بواســـطة البروتوزوا ، أو التقام كرات الدم البيضاء للميكروبات .

٢- الإرتشاف Pinocytosis

وفى هذه العملية يقوم الكائن بابتلاع السوائل ، أو جزيئات ذائبـــة ، أو جزيئـــات صغـــيرة الحجم .

تحتاج عملية الابتلاع بنوعيها (الالتقام والارتشاف) إلى طاقة ، مع توفـــر الكالســـيوم وكربوهيدرات الغشاء السيتوبلازمى . وعملية الابتلاع ليست عملية عشوائية ، بل تقـــع تحـــت سيطرة الخلية ، فالخلية لاتبتلع إلا الجزيئات التى تحتاجها ، ويتم ذلك بواســـطة نقـــاط تعـــارف Recognition sites (مجموعات كيميائية بمركبات الجليكوبروتينات والجليكولبيدات) توجد علـــى السطح الغشائى للخلية ، تتعرف بها الخلية على الجزيئات التى تبتلعها .

إذا ماحدث تعارف بين الجزيئات المطلوب ابتلاعها ، وبين المركبات الكربوهيدراتيـــة الموجودة بالغشاء السيتوبلازمى للخلية ، يحدث إلتصاق بين الجزيئات المطلوب إبتلاعها وبيـــن كربوهيدرات الغشاء ، ويتم بعد ذلك الابتلاع .

وتؤدى تغطية نقاط التعارف الموجودة بالغشاء السيتوبلازمى الى توقف عملية الابتـــلاع ، كمـــا يحدث فى حالة بكتريا الالتهاب الرئوى *Streptococcus pneumoniae* ، فالأنواع ذات العلبـــة ، من هذه البكتريا ، لاتتمكن كرات الدم البيضاء من التقامها ، لأن علبة البكتريـــا تغطـــى نقـــاط التعارف الموجودة بغشاء البكتريا السيتوبلازمى ، فإذا مااختفت العلبة ، تظهر نقاط التعـــارف ، فتتعرف كرات الدم البيضاء على البكتريا المرضية ، وتلتقمها .

النفاذية ، انتقال المغذيات فى البكتريا : Transport of nutrients

الغشاء السيتوبلازمى غشاء مرن ، هش ، شبه منفذ ، يسمح بمـــرور المـــاء والمـــواد الذائبة فيه بدرجات مختلفة ، حسب حاجة الخلية ، إذ أن للغشاء السيتوبلازمى خاصية النفاذيـــة الإختيارية ، لذلك يعتبر الغشاء السيتوبلازمى ، المسئول عن كل عمليات الانتشار الغشائى من

الخلية واليها ، حيث أن نظام تركيب الغشاء السيتوبلازمى ، وبما يحتويه من ناقلات ، ومايمتاز به من خاصية السيولة Fluidity ، يهيؤه لتأدية وظيفة النفاذية ، التى تتم بنظم مختلفة .

إضافة الى ذلك ، فإن الطبقة الفوسفولبيدية المزدوجة الداخلة فى تكوين الغشاء السيتوبلازمى ، تحتوى على ثقوب دقيقة Pores ، وهذه الثقوب غير ثابتة ، حيث تظهر وتختفى باستمرار مع حركة الجزء اللبيدى ، وتسمح سعة هذه الثقوب لجزيئات الماء وبعض الايونات بالمرور خلالها بنظام الانتشار البسيط Simple diffusion ، أما الجزيئات الأكبر حجما فإنها لاتمر من تلك الثقوب .

ويوضح الشكل [٥ (٢) - ٢٠] ، معدلات الانتشار لمجموعة من المواد عبر الغشاء السيتوبلازمى للخلية البكتيرية .

شكل ٥ (٢) - ٢٠ : نفاذية بعض الجزيئات فى الغشاء اللبيدى المزدوج للبكتريا .

ويلاحظ من الشكل أن المواد الكارهة للماء تنفذ بسهولة ، بينما يصعب ذلك على الانزيمات والمواد القطبية وبعض الأيونات ، وتتم عملية الانتقال من وإلى الخلية ، عبر الغشاء السيتوبلازمى بمساعدة بروتين التكامل Integral protein الموجود بالغشاء السيتوبلازمى .

نظم النفاذية

يعمل الغشاء السيتوبلازمى كحاجز ، مابين خارج الخلية وداخلها ، ولذلك فإن أية مادة لابد أن تنفذ من خلال هذا الحاجز ، لكى تدخل الى داخل الخلية ، أو تخرج منها .

وتتم هذه النفاذية بنظم مختلفة [شكل ٥ (٢) - ٢١] ، هى

١- الانتشار البسيط : Simple diffusion

فى هذا النظام ، كما ذكر سابقا ، تمر جزيئات المذاب من الثقوب الدقيقة Pores ، الموجودة بين جزيئات الغشاء السيتوبلازمى ، حيث تستطيع الجزيئات ذات الحجم الصغير مثل الماء ، وبعض الجزيئات غير القطبية مثل N_2 & O_2 ، وبعض الإنزيمات ، من المرور خلال تلك الثقوب ، أما الجزيئات الأكبر حجما من الثقوب ، فإنها لاتمر .

٢- الانتشار غير المُنشَّط : Passive diffusion

فى هذا النظام [شكل ٥ (٢) - ٢١ أ] تمر الجزيئات من ناحية الغشاء ، التى يكون فيها الجزيئات أعلى تركيزا ، إلى الناحية الأخرى من الغشاء ، التى تكون فيها الجزيئات أقل تركيزا ، بمعنى أن انتشار المواد يكون فى إتجاه الانحدار ، دون الحاجة إلى وجود عوامل منشطة ، إذ لايحتاج هذا النظام ، أو النظام السابق (الانتشار البسيط) ، إلى مواد مساعدة أو إلى طاقة لكى تتم عملية الانتشار .

ويحدث الانتشار غير المنشط بالنسبة للمواد التى يمكنها أن تمر خلال الغشاء بسهولة ، مثل المواد الذائبة فى اللبيدات .

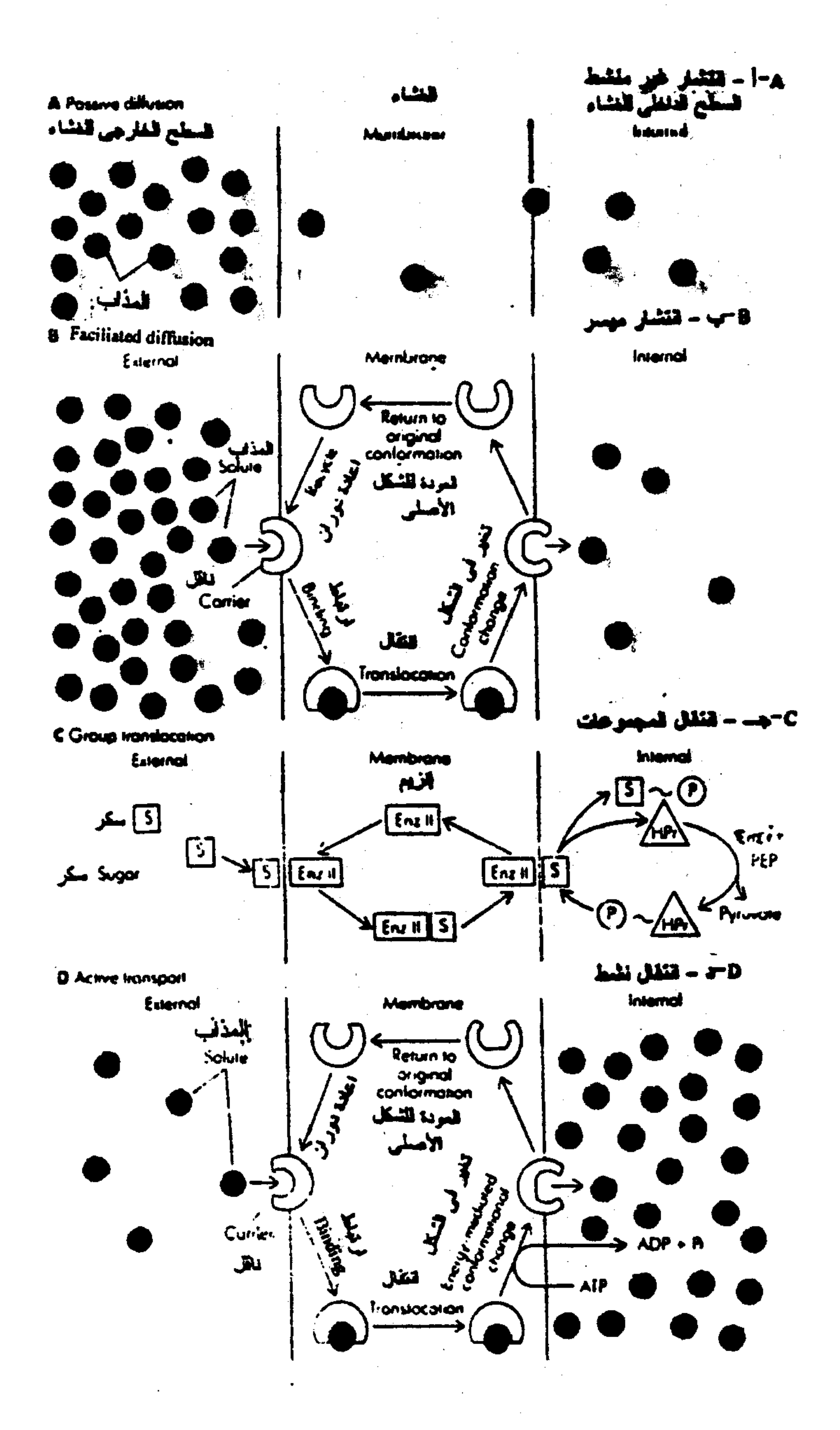
ويعتبر الماء من أهم المواد التى تنتشر عبر غشاء الخلية السيتوبلازمى ، بنظام الانتشار البسيط أو بالانتشار غير المنشط ، ونظرا لأن أغلب الأحياء الدقيقة تعيش فى وسط يختلف فى تركيزه عن تركيز الوسط بداخل الخلية ، فإن الجدار الخلوى للخلية ، يقوم بحماية الخلية من الإنكماش الأسموزى ومن الانتفاخ الأسموزى .

بعض الأنواع البكتيرية ، مثل التابعة لجنس *Halobacterium* ، محبة للملوحة المرتفعة ، وتستطيع أن تنمو فى وسط عالى الملوحة ، رغم أنه ليس لها جدار خلوى ، لأن بغشائها السيتوبلازمى صفات تركيبية مناسبة ، تساعد تلك البكتريا على تحمل الضغط الأسموزى المرتفع .

٣- الانتشار الميسر : Faciliated diffusion

يشابه هذا النظام [شكل ٥ (٢) - ٢١ ب] ، نظام الانتشار غير المُنشَّط ، فى أن الجزيئات الذائبة فى كلا النظامين تنتشر عبر الغشاء السيتوبلازمى فى إتجاه الانحدار ، من التركيز الأعلى إلى التركيز الأقل ، ولاتحتاج عملية الانتشار الى طاقة ، ولكن يختلف الانتشار الميسر عن الانتشار غير المنشط ، فى احتياج الانتشار الميسر إلى عوامل حيوية مساعدة توجد بالغشاء ، تسمى الناقلات Permeases ، تيسر عملية الانتشار .

يرتبط الناقل بالجزىء ، ويعود الارتباط إلى أن جزيئات المادة المنقولة ، تكون متلائمة للإرتباط مع البروتين الناقل المتخصص ، ويؤدى ارتباط الجزىء المنقول بالناقل ، إلى حدوث تغير فى شكل البروتين الناقل ، يصحبه دوران لهذا البروتين بما يحمله من جزيئات



شكل ٥ (٢) - ٢١ : نظم انتقال العناصر الغذائية إلى داخل الخلية البكتيرية .
أ - انتشار غير منشط   ب - انتشار ميسر   جـ - انتقال المجموعات   د - انتقال نشـــط
S : سكر ، Enz : انزيم ، S~P : سكر فوسفاتى ، HPr : ناقل بروتينى متحمل للحرارة
PEP : حامض فوسفو لينول بيروفيك

منقولة ، ويتحرك البروتين الناقل بما يحمله ، من السطح الخارجي للغشاء إلى السطح الداخلي ، حيث ينفصل الجزيء المنقول من الناقل ، ويدخل الجزيء المنقول إلى سيتوبلازم الخلية ، وينفرد الناقل ، ويعود الى شكله الأصلي ، ويدور ، ويتحرك إلى السطح الخارجي للغشاء ، ويعاود الناقل عمله من جديد [٥ (٢) - ٢١ ب] .

ويسود نظام الانتشار الميسر في حقيقيات النواة عن بدائيات النواه ، ومن المواد التي تنتشر بهذا النظام ، السكريات .

إن أنظمة الانتشار الثلاثة السابقة ، لاتحتاج الى طاقة ، وتعمل في إتجاه الإنحدار ، ولاتعمل عكس الأسموزية ، وهي نظم غير قادرة على تجميع الجزيئات المطلوبة بداخل الخلية ، أو على زيادة تركيزها بالخلية . أما النظامين التاليين ، وهما نظام الانتقال النشط ونظام انتقال المجموعات ، فأنها نظم تحتاج إلى طاقة ، ويمكن أن تعمل عكس الإنحدار Against gradient وهي نظم قادرة على تجميع الجزيئات بداخل الخلية وزيادة تركيزها ، عما هو موجود بخارج الخلية مئات المرات .

٤ - الانتقال النشط : Active transport

(وقد يسمى أيضا بمضخة نقل الجزيئات أو الأيونات Molecular or ion pumb transport)

تنتقل أغلب المواد الذائبة ، مثل السكريات ، الأحماض الأمينية ، الببتيدات ، النيوكليوسيدات ، والأيونات ... الخ ، خلال الغشاء السيتوبلازمي للخلية البكتيرية ، بنظام الانتقال النشط . ويحتاج هذا النظام الي توفر طاقة ووجود ناقلات ، حتى تتم عملية الانتقال .

ويتم هذا الانتقال النشط في ثلاث خطوات رئيسية [شكل ٥ (٢) - ٢١د] هي

أ - ارتباط الجزيء المنقول بالبروتين الناقل ، وتكون مركب مرتبط من الجزيء المنقول والناقل البروتيني ، ويتم الارتباط بإتحاد الجزيء المنقول بمراكز استقبال تقع على السطح الغشائي للناقل .

ب -انتقال المركب المرتبط عبر الغشاء السيتوبلازمي من سطح الغشاء الخارجي الى سطحه الداخلي ، كما يحدث في حالة الانتشار الميسر .

جـ - تحرر الجزيء المنقول من الناقل ، عند السطح الداخلي للغشاء السيتوبلازمي ، حيث يدخل الجزيء المنقول الي سيتوبلازم الخلية ، وينتقل الناقل الى السطح الخارجي للغشاء ، ليعاود نشاطه من جديد .

فك الارتباط الموجود بالمركب المرتبط ، الذي يربط بين الجزيء المنقول والناقل ، يتم بتفاعل إزدواجي Couple reaction بين المركب المرتبط وبين مادة مانحة للطاقة ، حيث تعمل الطاقة الناتجة على فك الارتباط ، وتحرر الناقل من الجزيء المنقول .

٥- إنتقال المجموعات : Group translocation

يحتاج هذا النظام إلى توفر طاقة وناقلات ومجموعات انزيمية لكى تتم عملية الانتقال . وفى هذا النظام [شكل ٥ (٢) - ٢١ جـ] ، تنتقل بعض المجموعات الكيميائية ، مثل السكريات ومشتقاتها ، من خارج الخلية إلى داخلها ، وذلك بعد حدوث تغير كيميائى وفسفرة للمجموعة المنقولة ، حتى تدخل إلى سيتوبلازم الخلية ، وتتجمع بها كسكر ثنائى .

مثالا على ذلك إنتقال السكر (S) من خارج بكتريا *E. coli* إلى داخلها ، بعد تحوله الى سكر فوسفاتى S-P ، ويشارك فى هذه العملية ، مجموعات إنزيمية عديدة ، ومجموعات ناقلة ، منها

نظام الفوسفو ترانسفريز .... Phosphotransferase system, PTS

حامض فوسفواينول بيروفيك .... Phosphoenol pyruvate, PEP

ناقل بروتينى متحمل للحرارة .... Heat-stable carrier protein, HPr

ويمكن تتبع عملية الانتقال من الشكل [٥ (٢) - ٢١ جـ] ومن المعادلة العامة التالية

$$\text{PEP} + \text{S} \xrightarrow[\text{Enz. II}]{\text{Enz I + HPr}} \text{S-P} + \text{Pyruvate}$$

سكر بخارج الخلية — **سكر فوسفاتى بداخل الخلية**

ومن المجموعات الأخرى التى تنتقل بنفس النظام ، مجموعات الأدنين والبيوتيرات Adenine & Butyrate ، التى تنتقل من السطح الخارجى لغشاء الخلية البكتيرية إلى السطح الداخلى للغشاء ، بعد أن تتحول مجموعة الأدنين إلى Adenine monophosphate ، وبعد تحول مجموعة البيوتيرات إلى Butyryl – Coenzyme A .

طاقة الانتقال

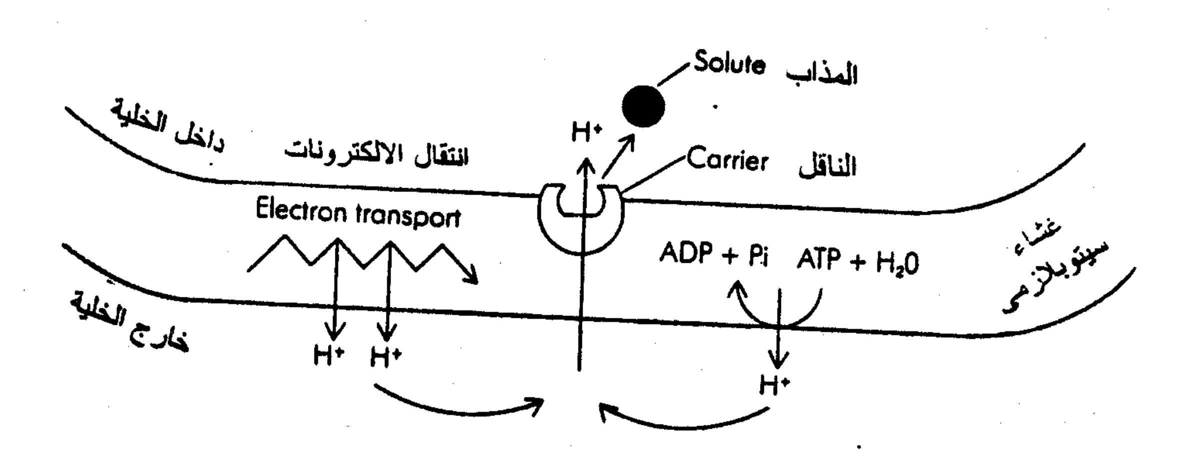
يتطلب إنتقال المواد الذائبة عبر الغشاء السيتوبلازمى ، توفر طاقة ، وذلك فى حالة الانتقال النشط وفى حالة انتقال المجموعات . وتعمل الطاقة على تنشيط البروتين الناقل ، وإحداث تغيير فى شكله ، تجعل الناقل قادرا على الارتباط بجزيئات المادة المنقولة ، وحملها ، ونقلها الى الناحية الأخرى من الغشاء ، حيث يتحرر الناقل من المادة المنقولة ، ويصبح قادرا على نقل جزيئات جديدة .

فى حالة الانتقال النشط ، فإنه يلاحظ أن تدفق الالكترونات عبر السلسلة التنفسية ، وانشطار مجموعة فوسفاتية من جزىء ATP ؛ يدفع البروتونات (H^+) لتخرج الى خارج الخلية ، وحدوث إنحدار بروتونى Proton gradient ، مما يؤدى الى تولد فرق فى قيمة ق يد pH ، وفى قيمة الجهد الكهربى Electric potential ، بين داخل الخلية وخارجها ، أو عبر غشائها السيتوبلازمى .

ويؤدى الانحدار البروتونى ، إلى تولد قوة دافعة للبروتون Proton motive force ، يمكن أن تستخدمها الخلية البكتيرية ، فى ضخ المواد الذائبة من خارج الخلية إلى داخلها .

وعند دخول البروتونات ثانية الى داخل الخلية ، فإن الطاقة الناتجة من هذا الدخول ، تنشّط الناقلات وتدفعها الى نقل المواد الذائبة ، عبر الغشاء السيتوبلازمى .

ويوضح [الشكل ٥ (٢) - ٢٢] ، عملية الربط مابين الانتقال النشط وبين الطاقة المولدة من الأيض الغذائى .



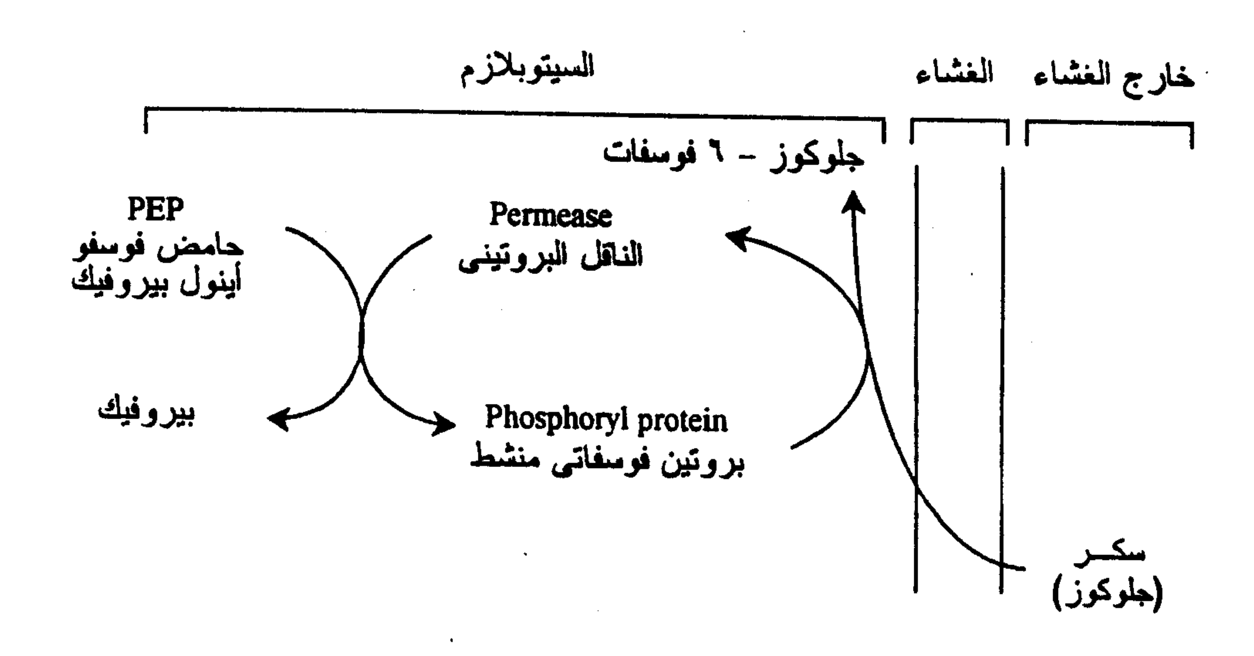
شكل ٥ (٢) - ٢٢ : إرتباط الطاقة المنطلقة من الايض مع نظام الانتقال النشط بالغشاء السيتوبلازمى للخلية البكتيرية .

وفى نظام إنتقال المجموعات Group translocation ، تأتى الطاقة اللازمـــة لعمليـــة الانتقال عبر الغشاء السيتوبلازمى ، من حامض الفوسفواينول بيروفيك الناتج من دورة الانحـلال الجليكولى بالخلية ، حيث يتحد الحامض بالبروتين الناقل (البرمييز) ، فينشـــط النــاقل ، ويقــوم بحمل المجاميع ونقلها ، وتعادل الطاقة الناتجة عن جزىء الفوسفواينول بيروفيك ، تلك الطاقـــة الناتجة عن استخدام المجموعة الطرفية فى جزىء ATP ، ويمكن تمثيل خطوات هذا الانتقـــال بما يلى

Phosphoenol pyruvic acid	**+ Protein carrier**	⟶	**Phosphoryl protein + Pyruvic**
PEP	**ناقل بروتينى (برمييز)**		**بروتين فوسفاتى منشط**

Phosphoryl protein + Sugar ⟶ **Sugar phosphate + Protein**

ويمكن توضيح ذلك بالتخطيط التالى



البروتوبلاست (خلية بدون جدار خلوى) Protoplast

البروتوبلاست عبارة عن الخلية البكتيرية التى بدون جدار خلوى ، أى جزء الخلية البكتيرية الذى يحتوى على الغشاء السيتوبلازمى ، ومايوجد بداخله من مكونات خلوية .

ويمكن الحصول على البروتوبلاست من الخلايا البكتيرية ، بمعاملة الخلايا بإنزيم اللايسوزيم الذى يذيب الجدار الخلوى ويزيله ، أو بزراعة البكتريا فى وسط يحتوى على مضاد البنسلين الذى يمنع تكوين الجدار الخلوى ، أو بتعريض الخلايا لضغط أسموزى مناسب ، حيث تنتفخ الخلية البكتيرية ، وينفصل الجدار الخلوى عن باقى الخلية ، أو بزراعة خلايا البكتريا فى وسط يخلو من حامض الداى أمينوبيميليك ، الى غير ذلك من الطرق .

ونتيجة لفقد الخلية لجدارها الخلوى ، فإن خلايا البروتوبلاست الناتجة ، تكون عبارة عن خلايا لينة ، هشة ، كروية (بصرف النظر عن شكلها الأصلى) ، وتكون شديدة الحساسية لتأثير الضغوط الأسموزية ، والرج والطرد المركزى ، ولايلتصق البكتريوفاج بخلايا البروتوبلاست .

وللمحافظة على حيوية خلايا البروتوبلاست ، فإنه يجب أن توجد تلك الخلايا فى وسط متساوى الأسموزية Isotonic ، أى ذى ضغط أسموزى بخارج البروتوبلاست مساو لما بداخل البروتوبلاست .

خلايا بكتريا مجموعة المايكوبلازما ، خلايا بدون جدار خلوى ، وهذا الفقد ليس نتيجة المعاملة ، بل هو صفة وراثية ، وبسبب عدم وجود جدار خلوى بالمايكوبلازما ، فإن لخلاياها خصائص خلايا البروتوبلاست ، فأغلبها كروى الشكل ، ولاتتحمل الضغوط الأسموزية ، وأغلب خلايا المايكوبلازما ، طفيليات على النباتات ومفصليات الأرجل والحيوان ، حيث تعيش فى وسط عادة متساوى الأسموزية ، ويدخل فى تركيب أغشية بعض أنواع المايكوبلازما ، مادة الكولسترول (أحد أنواع الاسترولات) ، التى تعطى لغشائها جزءاً من الصلابة .

السفيروبلاست : Sphaeroplast

السفيروبلاست عبارة عن خلية بكتيرية فقدت جزءا أو أجزاءاً من جدارها الخلوى (وليس كل الجدار) ، إذ مازال بعض أجزاء من ذلك الجدار متبقية ، ومرتبطة بغشاء الخلية السيتوبلازمى .

خلايا السفيروبلاست خلايا مستديرة ، وشديدة الحساسية للضغوط الأسموزية ، ويمكن الحصول على خلايا السفيروبلاست ، من الخلايا السالبة لصبغة جرام ، بمعاملة الخلايا باللايسوزيم أو بالبنسلين ، أو بتعريضها للضغوط الأسموزية ، وذلك كما فى حالة الحصول على خلايا البروتوبلاست من خلايا البكتريا الموجبة لصبغة جرام .

أهمية الغشاء السيتوبلازمى للبكتريا

للغشاء السيتوبلازمى أهمية كبيرة فى حياة الخلية البكتيرية ، وفى قيامها بوظائفها الحيوية المختلفة ، وإذا ماوقع ضرر على الغشاء السيتوبلازمى لسبب فيزيائى أو كيميائى ، فإن ذلك يؤدى إلى توقف نشاط الخلية وموتها .

ومما ذكر سابقا عن الغشاء السيتوبلازمى البكتيرى ، فإنه يمكن أن نوجز أهميته فيما يلى

١ – الغشاء تركيب نشط ، له خاصية النفاذية الاختيارية ، وهو المسئول عن كل عمليات الانتشار الغشائى ، من وإلى الخلية .

أ – فهو منظم لحركة الماء والكربوهيدرات والبروتينات والليبيدات والأيونات ... وغيرها من المواد .

ب – ويساعد على تركيز العناصر الغذائية بداخل الخلية ، رغم وجودها خارج الخلية بتركيزات منخفضة .

جـ – ويعمل على تنظيم إخراج المواد التالفة ، والانزيمات الخارجية التى تفرزها الخلية البكتيرية ، الى خارجها .

٢ – يحتوى الغشاء على كثير من الانزيمات التى تخلقها الخلية ، كما يحتوى فى تركيبات خاصة (الانغلافات) ، على الانزيمات التنفسية المسئولة عن الأكسدة والإختزال وانتقال الالكترونات والفسفرة ... الخ .

٣ – يحمل الغشاء جهاز التمثيل الضوئى الخاص بالبكتريا الممثلة للضوء ، من كلوروفيل بكتيرى ، وكاروتينويدات ، ونظام ناقل للالكترونات ، وانزيمات فسفرة ... الخ

٤– يحتوى الغشاء على الناقلات البروتينية Permeases ، المسئولة عن عمليات انتقال المواد عبر الغشاء السيتوبلازمى .

٥ – يوجد بالغشاء مراكز تضاعف الحامض النووى الدنا DNA ، ويتم بالغشاء كثير من العمليات التخليقية الحيوية ، الخاصة بإنقسام الخلية ، وتخليق الجدار الخلوى ، وتكوين العلبة البكتيرية .

٦ – يعتبر الغشاء السيتوبلازمى ، مكان توليد القوة الدافعة للبروتون Proton motive force، التى تأتى منها الطاقة اللازمة لتخليق ATP فى كثير من الكائنات ، وفى عمليات الانتشار الغشائى ، وفى تحريك الأسواط .

٧ –يحتوى الغشاء السيتوبلازمى على منابت الأسواط البكتيرية ، بالبكتريا المتحركة .

٨ –يشارك الغشاء السيتوبلازمى الجدار الخلوى ، المسئولية فى إيجابية الصبغ بطريقة جرام .

السيتوبلازم ومحتوياته الداخلية : Cytoplasm and its inclusions

مميزات السيتوبلازم البكتيرى

يحيط الغشاء السيتوبلازمى ، بالسيتوبلازم ، ويفصله عن الجدار الخلــوى . ويمكــن الحصول على السيتوبلازم ومحتوياته بتعريض الخلايا البكتيرية للطرد المركزى فائق الســرعة (١٠٠,٠٠٠ g) لعدة ساعات فى بيئة مخففة ، وبالتالى يمكن استخلاص مايحتويه الســيتوبلازم من إنزيمات ذائبة ومايحتويه من أحماض الرنا mRNA & tRNA ، ورايبوسومات مسئولة عن تخليق البروتين .

فالسيتوبلازم هو مادة الخلية الحية ، ويتشابه السيتوبلازم البكتيرى فــى صفاتــه مــع سيتوبلازم خلايا الكائنات الحية الأخرى ، ولايعتبر السيتوبلازم مادة واحــدة متجانســة ، بــل خليطاً ، إذ يضم كل المكونات التى يحيط بها الغشاء السيتوبلازمى ، فيما عدا النواة .

ويعتبر السيتوبلازم مادة غروية ، عديمة اللون ، تحتوى على نسبة ماء تبلغ حوالــى ٧٠-٨٥%، ويتكون أساساً من البروتين والليبوبروتينات والأحماض النووية وغيرها من المواد ، فى وســط مائى .

وللسيتوبلازم خواص الغرويات السائلة ، وهو يحتوى على غرويــات محبــة لوســط الانتشار ، وأخرى كارهة له ، إلا أن الغرويات المحبة لوسط الانتشـــار ، هــى الغالبــة فــى السيتوبلازم . ومكونات السيتوبلازم فى حالة إتزان دقيق ، وأى تغير فى هذا الاتــزان يضــر بنشاط الخلية ، أو بحياتها ككل .

وعند تعادل الحموضة ، أى عند نقطة التعادل الكهربائية Isoelectric point ، ترسـب غرويات السيتوبلازم ، ونظراً لأن السيتوبلازم يحتوى على أكثر من نوع من الغرويات، لكــل منها درجة ق يد معينة ، لذلك فإن للسيتوبلازم مدى range للتعادل الكهربائى ، وليــس نقطــة point للتعادل الكهربائى ، ويتراوح مدى التعادل الكهربائى الذى يرســب عنــده الســيتوبلازم مابين ق يد ٤,٦ إلى ٥,٠ .

وأهم مايميز السيتوبلازم البكتيرى عن سيتوبلازم خلايا حقيقيات النواة ، هو إحتــواء السيتوبلازم البكتيرى على نسبة مرتفعة من حامض الرنا النووى RNA ، مما يعطى للسيتوبلازم قابلية عالية ، للصبغ بالصبغات القاعدية مثل صبغة الجنسيان وصبغــة أزرق المثيليــن ، هــذا بالإضافة إلى أن خلايا بدائيات النواة ، لاتحتوى على عضيات محاطة بأغشــيه ، مثــل خلايــا حقيقيــات النواة ، وبهذا فإن الخلايــا البكتيريــة لاتحتــوى علــى ميتوكوندريــا أو شبكــة إندوبلازميــة أو بلاستيـــدات أو كلوروبلاســـت أو جهاز جولجــى Golgi apparatus [1] ،

---

(١) جهاز جولجى Golgi apparatus : حويصلات صغيرة ليوبروتينية ، توجد بالخلايا الحيوانية ، تلعب دورا فى عمليات الايض ، وفى الإخراج ، وتكوين الفجوات .

أو ديكتيوسومات Dictyosomes [1] ، كما أن سيتوبلازم بدائيات النواة ، يخلو من التدفقات البروتوبلازمية Protoplasmic streaming ، الموجودة بخلايا حقيقيات النواة ، والتى تساعد على حركة الجزيئات بداخل السيتوبلازم ، وذلك لأن حجم الخلية البكتيرية صغير نسبياً ، مما يجعل المسافة التى تنتقل فيها العناصر الغذائية بالخلية محدودا ، فلا تحتاج الخلية البكتيرية الى حركات تدفقية بالسيتوبلازم ، كالكائنات الأخرى .

ويمكن تمييز ثلاثة مناطق بالسيتوبلازم البكتيرى ، وهى

١ - منطقة السيتوبلازم Cytoplasmic area

وهى منطقة محببة المظهر ، غنية فى الجزيئات الكبيرة المكونة من رنا - بروتين RNA-protein ، المعروفة بالرايبوسومات Ribosomes ، أو بالرنا الرايبوسومى r-RNA ، حيث تتم عملية تخليق البروتين .

كما يوجد بهذه المنطقة السيتوبلازمية ، المواد الغذائية المخزنة كالفوليوتين والجليكوجين ، كما تضم تلك المنطقة الفجوات الغازية والعصارية .

٢- منطقة الكروماتين Chromatin area

وهى منطقة غنية بحامض الدنا DNA ، المكون لمادة الخلية النووية .

٣ - جزء مائع Fluid portion

ويضم هذا الجزء المحتويات السيتوبلازمية الذائبة ، فى وسط مائى .

ويحتوى هذا الوسط ، على العديد من الأيونات والسكريات والأحماض الأمينية والببتيدات والقواعد النتروجينية والانزيمات والمرافقات الانزيمية والصبغات غير الممثلة للضوء ، ويكون الكثير من هذه المواد ، أحجار البناء اللازمة لعمليات التخليق الحيوى التى تتم بالخلية ، كما يوجد بهذا الوسط الكثير من نواتج الأيض الغذائى للخلية .

المحتويات الداخلية والمواد المخزنة بالسيتوبلازم

Cytoplasmic inclusions and stored materials

يضم السيتوبلازم البكتيرى الكثير من المشتملات الداخلية ، بعضها يوجد بشكل ثابت ، ويلعب دورا هاما فى حياة الخلية ، كالرايبوسومات والكربوكسى سومات ، ويعتبر من خصائص النوع البكتيرى ، وتعرف هذه المواد بالمحتويات الداخلية Inclusions ، وبعضها يتواجد خلال فترات من أطوار النمو والنشاط ، ويظهر ويختفى بسيتوبلازم الخلية ، حسب ظروف النمو البيئية ، وتعرف هذه المحتويات بالمواد المخزنة Stored materials .

---

[1] ديكتيوسومات Dictyosomes : أكياس غشائية توجد فى الخلايا النباتية ، تماثل فى عملها عمل جهاز جولجى بالخلايا الحيوانية .

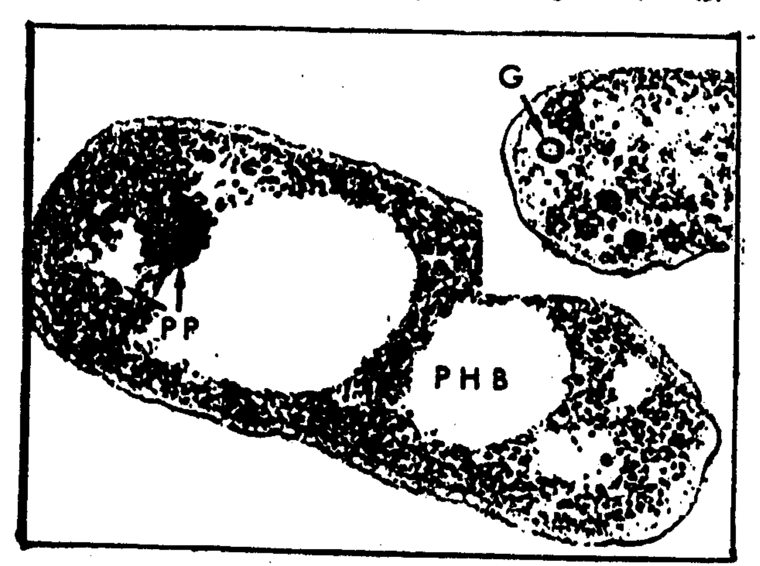
المواد المخزنة : Stored materials

هذه المواد عبارة عن رواسب مركزة ، عالية الكثافة ، عضوية أو غير عضوية ، توجد بسيتوبلازم الخلية البكتيرية ، وهى مواد خاملة أسموزيا ، ولاتذوب فى الماء ، وقد تظهر كحبيبات أو بلورات ، ويتوقف وجود هذه المواد نوعا وكما على نوع البكتريا وظروف نموها ، وفى الخلايا البكتيرية المخزنة للمواد الغذائية ، فإن هذه المواد تتراكم بالخلايا مع مضى الوقت، وتختفى من الخلية عند حاجة الخلية إليها ، أو أثناء الجوع .

ومن المواد المخزنة

١ - حبيبات الفوليوتين : Volutin granules

سميت هذه الحبيبات بالفوليوتين ، لأن أول مرة تم التعرف عليها ، كانت فى البكتريا الحلزونية المتحركة حلزونيا ، المسماه (*) *Spirillum volutans* ، وقد تسمى هذه الحبيبات باسم مكتشفيها بيبس وإيرنست وتسمى Babes and Ernst granules ، كما قد تسمى بالحبيبات الميتاكروماتينية أو الحبيبات عديدة التلون Metachromatic granules لأنها تأخذ لونا أحمرا ، مختلفا عن اللون الأزرق لباقى الخلية ، عند الصبغ بصبغة أزرق المثيلين ، وقد تسمى بالحبيبات عديدة الفوسفات Polyphosphate granules لمحتواها العالى من البولى فوسفات ، وتشاهد هذه الحبيبات بالمجهر الالكترونى ، كحبيبات مستديرة غامقة كثيفة[شكل ٥ (٢) - ٢٣].



شكل ٥ (٢) - ٢٣ : قطاع فى *Pseudomonas pseudoflava* يوضح

pp : حبيبات عديدة الفوسفات (الفوليوتين)
PHB : حبيبات بولى بيتا هيدروكسى بيوتيرات
G : حبيبات جليكوجين

(*) Volutin : كلمة ذات أصل لاتينى تعنى يلف حلزونيا .

حبيبات الفوليوتين واسعة الانتشار ، كمادة غذائية مخزنة بين أنواع البكتريا ، وتظـــهر الحبيبات صغيرة الحجم فى الخلايا صغيرة العمر ، ثم يزداد حجم الحبيبات بتقدم عمر الخلايـــا ، وقد يصل حجم الحبيبة الى ٠,٦ ميكرومتر ، وتتراكم الحبيبات بالخلايا لحيـــن الحاجـــة اليـــها ، لدرجة أنها قد تشكل ٤٠% من حجم الخلية .

ويعتبر وجود حبيبات الفوليوتين من الصفات المميزة لبكتريا الدفتريا ، كما تظهر الحبيبات فـــى بكتريا الرايزوبيا وهى فى طور البكتيرويد ، عند الصبغ ، كاشرطة بالخلية ذات لـــون أغمـــق عن لون باقى الخلية .

تتكون حبيبات الفوليوتين من نواتج الأيض الغذائى للخلية ، ويشكل الفوســـفور بتلـــك الحبيبات ، أكثر من ٥٠% من الفوسفور الكلى الموجود بالخلية ، فهى حبيبات عديدة الفوســـفات متبلمرة من سلاسل طويلة من بولى فوسفات مرتبط مع حامض الرنا ولبيدات ، بنسب تختلـــف من نوع بكتيرى لآخر ،

$$HO-\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{\underset{\underset{\displaystyle OH}{|}}{P}}-O-\left[\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{\underset{\underset{\displaystyle OH}{|}}{P}}-O\right]_n-\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{\underset{\underset{\displaystyle OH}{|}}{P}}-OH$$

وحدة الفوسفات المتكررة بالفوليوتين

تستخدم الخلية البكتيرية حبيبات الفوليوتين كمصدر للفوسفور والطاقة ، إذ أن الروابـــط الفوسفاتية الموجودة بجزىء الفوليوتين ذات روابط غنية بالطاقة ، ويمكن للبكتريا أن تســـتخدمها وقت الحاجة فى انتاج ATP ، وفى تكوين الأحماض النووية ، وفى إنقسام الخلية .

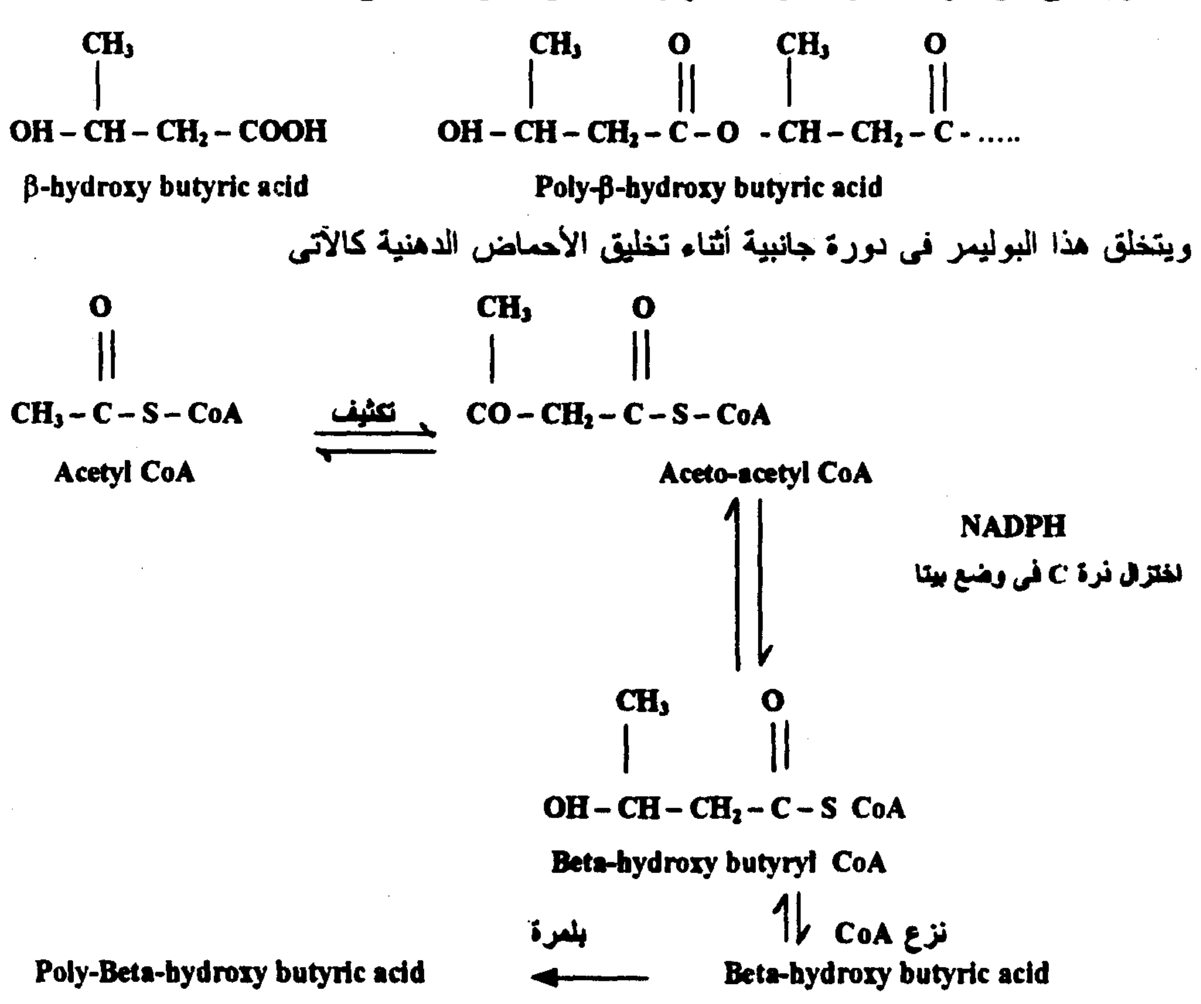
٢- حبيبات البولى بيتا هيدروكسى بيوتيرات : Poly-βeta-hydroxy butyrate, PβHB

مواد غذائية مخزنة توجد فى البكتريـــا الهوائيـــة والاختياريـــة مثـــل *Azotobacter, Bacillus & Escherichia* ، أما البكتريا اللاهوائية مثل الكلوستريديوم ، فانها لاتحتوى علـــى PβHB ، وكذلك فان خلايا حقيقيات النواة لاتحتوى على PβHB ، ولكنها تحتوى بـــدلا منـــها على الأحماض الدهنية المتعادلة (الجلسريدات الثلاثية) [أنظر جدول ٥ (٢) -٣ ، ص ٢٤٠] .

يزداد تخزين هذه المادة بالخلايا البكتيرية النامية فى وسط ذو نسبة كربـــون مرتفعـــة ونسبة نتروجين منخفضة ، حيث تصل نسبتها الى حوالى ٧٠-٨٠% من الوزن الجاف للخليـــة فى البكتريا الهوائية ، وتصل نسبتها الى ٣٥% بالبكتريا الاختيارية ، كما يزداد تراكم هذه المادة بالخلايا ، عند حاجة الخلايا لإجراء تخمرات فى وسط به نسبة الأكسجين قليلة .

البولى بيتا هيدروكسى بيوتيرات شديدة الشبه بالليبيدات ، فهى قابلة للذوبان فى الدهون، وقابلة للصبغ فى الصبغات المحبة للدهون مثل صبغة أسود السودان Sudan black ، حيث تأخذ اللون الأسود المزرق ، بينما تأخذ باقى الخلية اللون الأحمر من صبغة الصفرانين . وعند عدم الصبغ ، فإن مادة PβHB تظهر تحت المجهر الضوئى كمناطق لامعة لقدرتها العالية على كسر الأشعة الضوئية .

البولى بيتا هيدروكسى بيوتيرات مادة متبلمرة ، من حامض بيتا هيدروكسى بيوتريك ، ترتبط فيه وحدات الهيدروكسى بيوتيرات مع بعضها بروابط استر ، تربط بين مجموعة الهيدروكسى من جزىء ، ومجموعة الكربوكسيل من الجزىء التالى



وتراكم PβHB بالخلية ، يساعد البكتريا على معادلة الحموضة التى تتكون بها ، أثناء النشاط الايضى للخلية ، حيث تختفى الصفات الحامضية للجزىء ، أثناء بناء روابط الاستر . وتستخدم البكتريا مادة PβHB المخزنة ، كمصدر للكربون والطاقة ، وفى عمليات الايض التأكسدى ، كما تلعب مادة PβHB دورا فعالا فى تثبيت نتروجين الهواء الجوى بواسطة بكتريا الأزوتوباكتر .

وفى البيئات البكتيرية الفقيرة فى الكربون ، الغنيه فى النتروجين ، فإن البكتريا تحلـل PβHB فى خطوات عكسية لعملية تخليقة ، لتستخدمه كمصدر للكربون ، لبناء المادة الخلوية

Poly βHB ⟶ βHB ⟶ βH butyryl CoA ⟶ Aceto-acetyl Co
↓
Acetyl CoA (وهذا يستعمل كمصدر للكربون فى دورة كربس)

بعض أنواع البكتريا قادرة على تكوين بوليمرات ، جنبا إلى جنب مع بوليمر PβHB ، وتخزينها بالسيتوبلازم ، وذلك إذا ماتوافرت بالبيئـة مـواد التفـاعل اللازمـة لتكويـن هـذه البوليمرات .

على سبيل المثال ، فعند توفر مادة حامض البروبيونيك ، أو حامض بيتا هيدروكسـي فـالريك ، أو أحمـاض دهنيـة هيدروكسـيلية Hydroxyfatty acids ذات سلاسـل طويلـة (ك٨ ، ك١٠ ، ك١٢) ، فإنه يتكون من هذه المواد بوليمرات

Poly-β-hydroxy butyric acid,
Poly-β-hydroxy valeric acid, &
Poly hydroxy fatty acids

ويشار الى هذه المواد مجتمعة باسم Poly-hydroxy-alkanoates, PHAS ، وتسـتخدم هـذه البوليمرات حاليا ، لإنتاج أنواع جديدة من البلاستيك ، تتميز بقابليتها للتحلل البيولوجـي ، عـن البلاستيك المنتج من بلمرة Polyethylene & Polypropylene .

٣ – السكريات العديدة : Polysaccharides

وجدت هذه المواد مخزنة فى سيتوبلازم أنواع عديدة من البكتريا ، وهذه المواد هـي بوليمر من الجلوكوز ، فى سلاسل ، بروابط بين الجزيئات من نوع ألفا ١–٤ جليكوزايد (مكونة أمايلوز) ، مع تفرعات بروابط ألفا ١–٦ جليكوزايد عند التفرعات (مكونة أمايلوبكتين) .

وتخزن هذه السكريات بالخلايا البكتيرية فى صورة معقـدة ، كـالجليكوجين (النشـا الحيوانى) ، أو النشا (النشا النباتى) ، أو الجرانيولوز (شبيه النشا النباتى) ، ولكـن أكـثر هـذه السكريات العديدة إنتشارا كمادة غذائية مخزنة بخلايا البكتريا ، هو الجليكوجين .

أ – الجليكوجين : Glycogen

عديد التسكر شبيه بالأمايلوبكتين ، وهو المسئول عن إكساب حبيبات النشـا الحيوانـي (الجليكوجين) اللون البنى المحمر مع صبغة اليود ، وتظهر الحبيبـات بالمجـهر الإلكـترونى كمناطق داكنة اللون [أنظر شكل ٥ (٢) – ٢٣] .

وعادة مايخزن الجليكوجين بخلايا البكتريا ، عندما تنمو البكتريا فى وسط ذو نسبة متسعة من الكربون إلى النتروجين Wide C/N ratio ، وعند تناقص مصادر الكربون بالوسط ، تقوم البكتريا باستهلاك ماخزنته من جليكوجين .

وقد وجدت حبيبات الجليكوجين مخزنة فى خلايا أنواع بكتيرية كثيرة ، خاصة الهوائية والإختيارية ، مثل *Arthrobacter, Bacillus, Escherichia, Salmonella* and *Micrococcus* وبالاضافة إلى البكتريا ، فإن حبيبات الجليكوجين توجد أيضا فى خلايا الخمائر والفطريات .

ب - النشا : Starch

يتكون جزىء النشا من أمايلوز وأمايلوبكتين ، ويكون الأمايلوز حوالى ٢٠ - ٣٠% من الكمية الكلية ، والامايلوز هو المسئول عن إكساب النشا اللون الأزرق مع صبغة اليود .

وقد وجدت حبيبات النشا مخزنة فى بعض أنواع البكتريا مثل *Acetobacter pasteurianus & Neisseria* .

جـ - الجرانيولوز : Granulose

هى حبيبات شبيهة بالنشا فى تركيبها ، وتعطى لونا أزرقا مع صبغة اليود . وقد وجدت هذه الحبيبات مخزنة فى سيتوبلازم بعض أنواع البكتريا اللاهوائية المتجرثمة مثل *Clostridium butyricum & Cl. pasteurianum* .

ويوضح جدول [٥ (٢) -٣] التالى ، المواد المخزنة العضوية غير النتروجينية ، الموجودة فى أنواع مختلفة من البكتريا .

جدول ٥ (٢) - ٣ : تواجد المواد المخزنة العضوية غير النتروجينية ، فى أنواع مختلفة من البكتريا .

PβHB	Glycogen جليكوجين	PβHN + Glycogen
Azospirillum	*Bacillus*	- بكتريا الكبريت الارجوانية
Azotobacter	*Clostridium*	- السيانوبكتريا
Bacillus	*E. coli*	
Enterobacteriaceae	*Salmonella*	
Pseudomonas	*Shigella*	
Rhizobium		
Vibrio		

ملاحظات :

١ - يوجد النشا والجليكوجين فى خلايا كل من بدائيات النواة وحقيقيات النواة ، ويميز بينهما باليود .

٢ - يوجد PβHB فى خلايا بدائيات النواة ولايوجد فى حقيقيات النواة ، ويتعرف عليه بالصبغ بأسود السودان .

٣- لايوجد PβHB فى خلايا البكتريا اللاهوائية مثل *Clostridium* .

٤- تحتوى خلايا حقيقيات النواة على أحماض دهنية متعادلة ، ولاتوجد هذه الأحماض فى خلايا بدائيات النواة

٤ – حبيبات الكبريت : Sulfur granules

توجد هذه الحبيبات كمادة مخزنة ، فى خلايا البكتريا المؤكسدة للكبريتيد وغـيره مـن المركبات الكبريتية المختزلة ، مثل بكتريا *Beggiatoa & Thiothrix* ، حيث تؤكسد هذه البكتريا المركبات الكبريتية المختزلة ، وترسب الكبريت كحبيبات بداخل خلاياها ، لحين الحاجة اليه .

حبيبات الكبريت المخزنة داخل الخلايا ، ذات شكل كروى ، ولها قدرة عالية على كسر الأشعة الضوئية ، ولذا تظهر لامعة تحت المجهر الضوئى ، وهى غير قابلة للذوبان فى الماء أو الأحماض ، ولكنها تذوب فى الكحول والقلويات .

بكتريا الكبريت الهوائية غير الممثلة للضوء مثل *Beggiatoa & Thiothrix* ، تستخدم H_2S كمصدر للطاقة ، وتؤكسده إلى S ، الذى يتراكم داخل خلاياها ، ثم يتأكسد S الى كبريتات وبالتالى تختفى حبيبات الكبريت .

كما أن بكتريا الكبريت اللاهوائية الأرجوانية ، الممثلة للضوء مثل *Chromatium* ، تستخدم H_2S كمانح للالكترونات ، فى تفاعلات الأكسدة والإختزال ، وتؤكسده إلى S ، الذى يتراكم بداخل خلاياها ، حسب التفاعل التالى

$$CO_2 + 2\,H_2S \xrightarrow[\text{بكتريا أرجوانية}]{\text{ضوء}} HCHO + H_2O + 2S$$

ثم يتأكسد الكبريت الناتج ، ويتحول الى كبريتات ذائبة

قد يوجد أحيانا ، حبيبات كبريتية مخزنة فى خلايا بعض أنواع السيانوبكتريا ، او فى خلايا بكتريا *Sphaerotilus natans* (من أنواع بكتريا الحديد وتعيش بالمياه) ، ويعتبر هذا التخزين طريقة للتخلص من سمية H_2S الموجود بوسط نمو هذه الأنواع البكتيرية ، وذلك بأكسدته وتحويله الى كبريت .

٥– الحبيبات (الجسيمات) المغناطيسية : Magnetosomes

عبارة عن ترسبات دقيقة بالخلايا لبلورات من أكسيد الحديديك المغناطيسى Fe_3O_4 (الماجنيتايت) ، مخزنة بداخل سيتوبلازم بعض أنواع البكتريا المائية مثل *Magnetospirillum* (*Aquaspirillum*) *magnetotacticum* ، وتعمل هذه الجسيمات على جذب خلايا البكتريا إلى القاع حيث تسود الظروف اللاهوائية ، لأن أغلب هذه الأنواع البكتيرية التى توجد بها هذه الحبيبات ، لاهوائية أو محبة لكمية قليلة من الأكسجين (أنظر ص ١٨٨) .

وتعمل هذه البلورات الممغنطة ، كما تعمل ابرة البوصلة الممغنطة ، إذ توجه الخلية في خط المجال المغناطيسي الأرضي ، ناحية الشمال أو ناحية الجنوب المغناطيسي (راجع الاستجابة المغناطيسية ، ص ١٨٨) .

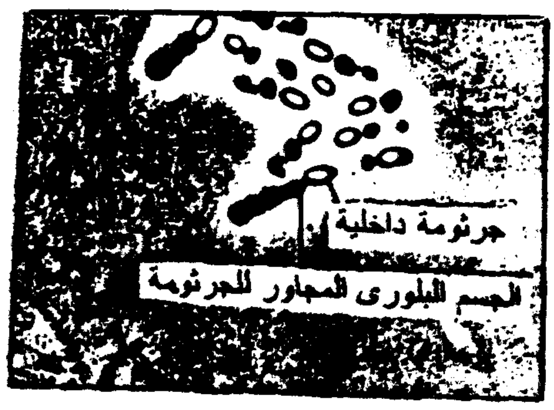
٦- بلورات البروتين : Protein crystals

بعض أنواع البكتريا ، مثل *Bacillus thuringiensis* يتكون بداخل خلاياها وهي في طور الاسبورانجيوم ، بلورات بروتينية توجد بجانب الجرثومة ، وتسمى البلورة المتكونة ، بالجسم المجاور للجرثومة Parasporal body .

تحتوي الخلية المتجرثمة على جسم واحد فقط من هذه الأجسام ، وهي بلورات ثمانية الأسطح Octahedral ، وبعكس الجراثيم الداخلية ، فإن هذه الأجسام تصبغ بسهولة ، ولاتحاط بأي غشاء أو غطاء ، ويتحكم في انتاج هذه البلورات ، جينات إنتاج بروتين البلورة Cry genes, Crystal protein genes الموجود في السلالة البكتيرية المنتجة .

وهذه البلورات عبارة عن جليكوبروتين ذو وزن جزيئي مرتفع ، قد يصل إلى ٢٥٠ ألف دالتون ، والجزء السام به عبارة عن سلسلة عديدة الببتيدات ، والبلورات سامة ليرقات بعض الحشرات حرشفية الأجنحة ، مثل دودة ورق القطن ، وتنتج هذه المواد الآن تجاريا في شكل مسحوق ، يستعمل في المكافحة الحيوية ضد بعض الحشرات .

والشكل التالي يبين وضع الجسم البلوري المجاور للجرثومة الداخلية ببكتريا *B. th.* ، كما تشاهد بمجهر متباين الأطوار الضوئي .



شكل يبين وضع الجسم البلوري المجاور للجرثومة الداخلية ببكتريا *Bacillus thuringiensis* ، كما تشاهد بمجهر متباين الأطوار الضوئي

٧ – حبيبات السيانوفايسين : Cyanophycin granules

مادة غذائية نتروجينية مخزنة ، توجد فقط في خلايا السيانوبكتريا ، وتخزن أساسا في خلايا الهتيروسست ، والسيانوفايسين عبارة عن جسيمات من النتروجين المرتبط ، عديدة الببتيدات ، يدخل في تركيبها أحماض الأسبارتيك والأرجنين بنسبة ١:١ .

يعمل السيانوفايسين كمادة غذائية نتروجينية مخزنة ، تمد السيانوبكتريا بحاجتها من النتروجين ، وذلك عند نقص النتروجين بالبيئة ، كما يعمل السيانوفايسين أحياناً كمصدر للطاقة حيث يمكن لنتروجين السيانوفايسين تحت ظروف لاهوائية ، تخليق ATP ، بتحلل السيانوفايسين الى Carbamoyl phosphate وأورنثين .

٨ - الفجوات : Vacuoles

يشتمل السيتوبلازم البكتيرى على تجاويف محاطة بغلاف رقيق تعرف بالفجوات ، منها مايكون مملوءا بالغازات ويسمى فجواتا غازية Gas vacuoles ، ومنها مايحتوى على عصارات خلوية ويسمى فجواتا عصارية Cell-sap vacuoles .

أ - الفجوات الغازية : Gas vacuoles

بعض الأنواع البكتيرية خاصة تلك التى تعيش فى الأوساط المائية ، ومنها الأنواع المحبة للملوحة ، والبكتريا الممثلة للضوء والسيانوبكتريا ، يحتوى سيتوبلازم خلاياها على فجوات غازية ، وهذه الفجوات تساعد البكتريا على الطفو بالمياه ، بتغيير كثلتها النوعية ، كما أنها تساعد البكتريا على التوجه نحو مصدر الضوء كما فى حالة البكتريا الضوئية ، أو التوجه نحو الوسط ذو الحرارة المناسبة للنمو .

تظهر هذه الفجوات الغازية تحت المجهر الضوئى ، كأجسام لامعة ، لقدرتها العالية على كسر الأشعة الضوئية ، وتظهر تحت المجهر الالكترونى كفقاعة جوفاء ، مغزلية الشكل ، ومرتبة ترتيبا منظما بالسيتوبلازم . والفقاعة محاطة بغلاف رقيق بسمك حوالى ٢ نانومتر ، من بروتين أحادى الطبقة ، وهذا الغلاف غير منفذ للماء ، ولكنه يسمح بنفاذ الغازات الذائبة من بيئة النمو ، إلى داخل الفجوة .

ب - الفجوات العصارية : Cell-sap vacuoles

عبارة عن فجوات توجد فى السيتوبلازم البكتيرى ، تحتوى على عصارات خلوية Cell-sap ، ويتوقف عددها بالخلية البكتيرية على نشاط الخلية ، وظروف النمو البيئية .

تشاهد الفجوات العصارية بوضوح فى الخلايا البكتيرية النشطة ، حديثة النمو ، وعندما تقترب الخلية من النضج ، فإن بعضا من المغذيات القابلة للذوبان المُنتجة بواسطة الخلية ، تضاف لمحتويات الفجوة العصارية ، أما المواد غير الذائبة ، فإنها تترسب بالسيتوبلازم ، كمواد غذائية مخزنة .

تعمل هذه الفجوات العصارية فى المحافظة على ضغط الانتفاخ بالخلية Turgor pressure* ، كما تخزن الخلية بها بعض نواتجها الايضية الزائدة ، وبعض الانزيمات الذائبة .

* ضغط الانتفاخ (ضغط الجدار) ، Turgor pressure ، هو الضغط الذى ينشأ من داخل الخلية النباتية على جدارها الخلوى ، نتيجة الأسموزية Osmosis أو بسبب التشرب Imbibition .

٩ - المكونات السيتوبلازمية الذائبة : Soluble cytoplasmic constituents

بالإضافة إلى محتويات السيتوبلازم من الحبيبات ، فإن السيتوبلازم البكتيرى يحتوى على جزء ذائب ، يعرف بالعصير الخلوى Cell sap .

ويحتوى العصير الخلوى على جزيئات دقيقة الحجم ، تحت مجهرية ، منها ماهو ذو وزن جزيئى كبير ، وهى بروتينات لمجموعة من الانزيمات الذائبة ، وحامض الرنا الذائب (الناقل) t-RNA ، ومنها ماهو ذو وزن جزيئى صغير ، مثل الكربوهيدرات والأحماض الأمينية والنيوكليوسيدات ، وهذه الجزيئات ذات الوزن الجزيئى الصغير ، تولد ضغط أسموزيا على جدار الخلية من الداخل يختلف فى مقداره باختلاف الأنواع البكتيرية ، وهو عموما أعلى فى الخلايا البكتيرية الموجبة لصبغة جرام ، عما هو فى الخلايا السالبة لصبغة جرام .

كما يحتوى العصير الخلوى البكتيرى على النواتج الثانوية للأيض الغذائى Secondary metabolites ، مثل المضادات الحيوية ، والصبغات غير الممثلة للضوء ، وتستخدم خاصية انتاج هذه المواد ، كصفات تصنيفية للتفرقة بين الأنواع البكتيرية ، لأن انتاج هذه المواد يعتمد على الصفات الوراثية للنوع البكتيرى .

الصبغات غير الممثلة للضوء : Non-photosynthetic pigments

توجد هذه الصبغات فى الجزء الذائب من السيتوبلازم ، فى بعض أنواع البكتريا ، كنواتج ثانوية للأيض الغذائى ، وهى من الصفات الوراثية للنوع البكتيرى .

وعادة ماتوجد هذه الصبغات فى البكتريا الموجودة بالهواء ، لأن هذه الصبغات تحمى البكتريا من تأثير الأكسدة الضوئية ، الناتجة من تأثير الأشعة الضوئية والأشعة فوق البنفسجية كما أن بعضا من هذه الصبغات يعمل كمضاد حيوى .

قد تبقى هذه الصبغات بداخل الخلية البكتيرية ، وتسمى صبغات داخلية Intracellular pigments كما فى حالة بكتريا *Serratia* ، أو تفرز الى خارج الخلية ، وتسمى صبغات خارجية Extracellular pigments ، كما فى حالة بكتريا *Pseudomonas* .

وتنتمى الصبغات غير الضوئية ، إلى مجموعات كيميائية عديدة [شكل ٥ (٢) - ٢٤] ، فمنها

١ - الكاروتينويدات : Carotenoids

كما فى بكتريا : *Micrococcus, Mycobacterium phlei, Nocardia, Rhodotorula & Sarcina*

وهذه الصبغات ذات لون مصفر أو محمر ، ومنها صبغات Xanthine (Sarcinaxanthine), Xanthophyll (Phlei-xanthophyll) & Iodinine .

Pyocyanine Prodigiosin Iodinine

Violacein Indigoidin Pulcherrimin

Phlei-xanthophyll

Sarcinaxanthine

شكل ٥ (٢)- ٢٤ : تركيب بعض الصبغات (غير الضوئية) التى تكونها الخلايا البكتيرية .

٢ - الكينونات : Quinones

كما فى بكتريا : *Arthrobacter, Corynebacterium & Pseudomonas indigofera*

وهذه الصبغات ذات لون مزرق وتفرز خارج الخلية ، ومن هذه الصبغات Indigoidin .

٣ - الملانين : Melanine

كما فى بكتريا *Azotobacter*

وهذه الصبغات ذات لون أسود .

٤ - مشتقات البيرول : Pyrollic derivatives

كما فى بكتريا *Serratia marcescens* & Actinomycetes

وهذه الصبغات ذات لون محمر ، ومنها صبغة Prodigiosin .

٥ - مشتقات الاندول : Indole derivatives

كما فى بكتريا *Chromobacterium violaceum*

وهذه الصبغات ذات لون بنفسجى ، ومنها صبغة Violacein .

٦ - صبغات الفينازين : Phenazine dyes

كما فى بكتريا *Pseudomonas*

وهذه الصبغات ذات لون مزرق وتفرز خارج الخلية ، ومنها صبغة Pyocyanine التى تفرزها بكتريا *Ps. aeruginosa* ، وصبغة Fluorescein ذات لون أصفر مخضر ، التى تفرزها بكتريا *Ps. fluorescens* .

المحتويات الداخلية : Inclusions

إضافة الى المواد المخزنة الغذائية Stored materials ، التى يحتويها السيتوبلازم البكتيرى ، فإن السيتوبلازم يحتوى أيضا على مجموعة من الجسيمات والتراكيب ، تعرف بالمحتويات الداخلية Inclusions ، وتوجد هذه المحتويات بالخلية البكتيرية بشكل ثابت ، وتعتبر من خصائص النوع البكتيرى ، وتلعب أدوارا هامة فى نشاط وحياة الخلية البكتيرية .

وتشتمل المحتويات الداخلية على

١ - حوامل الصبغات الضوئية : Chromatophores •

لايوجد بالبكتريا الممثلة للضوء بلاستيدات خضراء أو كلوروبلاست ، ولكن يوجد بدلا منها مايعرف بحاملات الصبغات Chromatophores ، وهذه عبارة عن جسيمات ليبوبروتينية ، غشائية ، يتكون غشاؤها من طبقة رقيقة من بروتين أحادى الطبقة . تحمل جهاز التمثيل الضوئى من كلوروفيل بكتيرى وكاروتينويدات ونظام ناقل للالكترونات وانزيمات فسفرة ، وفى هذه الحوامل تتم عملية التمثيل الضوئى .

ورغم أن الحوامل تراكيب غشائية ، إلا أنها لاتعتبر عضيات كتلك الموجودة بحقيقيات النواة ، لأن غشاء حوامل الصبغات بالبكتريا ، لايشبه الأغشية الخلوية مزدوجة الطبقة

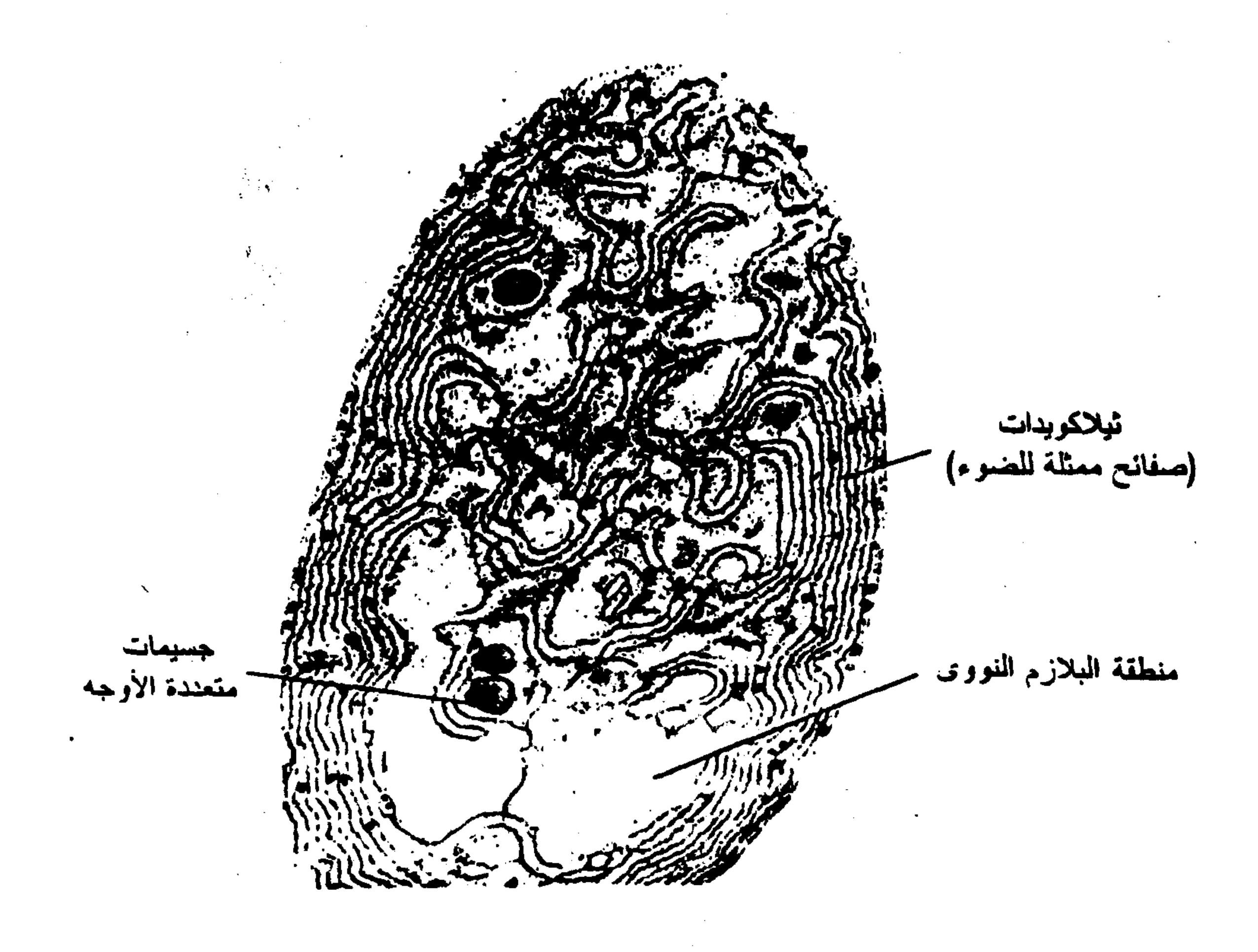
• راجع البكتريا الممثلة للضوء بالباب السابع الفصل الثانى

وراجع التمثيل الضوئى بالباب العاشر الفصل السادس

الفوسفولبيدية ، بل هو أحادى الطبقة بروتينى ، كما أنه غير قادر على التكاثر الذاتى كما فى حقيقيات النواة .

وفى البكتريا الملونة ، الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين ، مثل البكتريا الأرجوانية والخضراء ، فإن حوامل الصبغات الضوئية ، توجد كإنغلافات بالغشاء السيتوبلازمى .

أما فى البكتريا الممثلة للضوء المنتجة للأكسجين ، السيانوبكتريا ، فإن حوامل الصبغات الضوئية ، عبارة عن ثنايا متعددة مسطحة الشكل ، توجد متعمقة فى السيتوبلازم ، وتتصل بالغشاء السيتوبلازمى فى أماكن محددة ، وتسمى بالثايلاكويدات Thylakoids [شكل ٥ (٢) - ٢٥] . ويلاحظ أن جنسا واحدا من السيانوبكتريا ، هو *Gloeobacter* ، لاتحتوى خلاياه على ثايلاكويدات ، بل يوجد جهازه الضوئى فى إنغلافات بالغشاء السيتوبلازمى .



شكل ٥ (٢) - ٢٥ : قطاع فى سيانوبكتريا *Anabaena azollae*
يوجد أغلب الثيلاكويدات فى المحيط الخلوى ، وبعضها يمتد إلى وسط الخلية .

وتمتاز ثايلاكويدات السيانوبكتريا ، بأنها تحمل الكلوروفيل البكتيرى ، كما أنها تحمل أيضا كلوروفيل أ الذى يمكن الجهاز الممثل للضوء بالخلية ، من إمتصاص الموجات الضوئية ذات الطول الموجى من ٦٨٠ الى ٦٨٣ نانومتر ، كما أن السيانوبكتريا قادرة على استخدام الماء كمانح للالكترونات بدلا من H_2S ، وذلك لتثبيت CO_2 .

٢- الكربوكسى سومات : Carboxysomes

الكربوكسى سومات عبارة عن تركيبات حبيبية دقيقة ، عديدة الأوجه ، محاطة بغشاء رقيق ، توجد فى سيتوبلازم خلايا السيانوبكتريا ، وفى بعض أنواع البكتريا الممثلة للمواد الكيميائية مثل *Nitrobacter & Thiobacillus* .

تحتوى هذه الجسيمات على إنزيم Ribulose diphosphate carboxylase ، وهو الانزيم المفتاحى Key enzyme فى دورة كالفن الخاصة بتثبيت غاز CO_2 .

٣- الميسوسومات المركزية : Central mesosomes

هى انغلافات ليبوبروتينية من الغشاء السيتوبلازمى ، توجد عند منتصف الخلية ، أى فى المنطقة التى سيحدث عندها انقسام الخلية وتكوين الجدر الخلوية الجديدة ، وتمتد هذه الانغلافات بعمق فى السيتوبلازم حتى تتصل بمادة الخلية النووية . وتلعب هذه الميسوسومات دورا فى تضاعف الدنا DNA ، وفى انقسام الخلية وبناء الأغشية ، وتكوين الجدر الخلوية للخلايا البنوية الجديدة .

٤- الرايبوسومات : Ribosomes *

الرايبوسومات عبارة عن وحدات بنائية توجد فى سيتوبلازم الخلية البكتيرية كحبيبات ، وقد تم التعرف عليها عام ١٩٥٩ باستخدام الطرد المركزى فائق السرعة ، وهى تعطى للسيتوبلازم البكتيرى مظهره المحبب الذى يظهر تحت المجهر الالكترونى .

وحدات الرايبوسومات كروية الشكل تقريبا ، قطر الوحدة حوالى ٢٠ نانومتر ، وكتلتها حوالى ٢,٤ × ١٠^٦ دالتون ، وتتركب الرايبوسومات من حوالى ٦٠% حامض الرايبوز النووى الرنا و ٤٠% بروتين ، ولذا تسمى الرنا الرايبوسومى Ribosomal RNA, r-RNA ، ويشكل رنا الرايبوسومات حوالى ٨٠% من جملة أحماض الرنا RNA الكلية الموجودة بالخلية ، وتحتوى الخلية البكتيرية على عدد من الرايبوسومات يتراوح مابين ٥ آلاف إلى ٥٠ ألف ، ويتوقف ذلك على معدل نمو ونشاط البكتريا ، ومدى ملاءمة الظروف البيئية للنمو ، وتمثل الرايبوسومات فى وقت نشاط الخلية ، حوالى ٤٠% من وزن الخلية الجاف .

الرايبوسومات هى مراكز تخليق البروتين بالخلية ، وهى تقابل الميكروسومات Microsomes فى خلايا حقيقيات النواة ، ولاتوجد رايبوسومات البكتريا فى شبكة إندوبلازمية ، كما فى رايبوسومات حقيقيات النواة ، ولكنها توجد فى السيتوبلازم ، بعضها فى حالة حرة ، وبعضها مرتبط بالسطح الداخلى للغشاء السيتوبلازمى ، وأغلبها يوجد فى تجمعات بأحجام مختلفة بالسيتوبلازم ، ويطلق عليها عديد الرايبوسومات Polysomes, Polyribosomes ، وبعضا من هذه التجمعات يظهر على شكل سلسلة ملتصقة مع بعضها ، بواسطة خيط من مواد

---

* راجع أنواع حامض الرنا ، بالباب التاسع ، الفصل الثالث ، ص ٧٠٧ ومايليها .

لاصقة من حامض الرنا الرسول m-RNA ، وهو الحامض الذى يحمل الشفرة الوراثية الخاصة بتخليق السلاسل الببتيدية من حامض دنا DNA النواة ، إلى الرنا الرايبوسومى r-RNA بالسيتوبلازم .

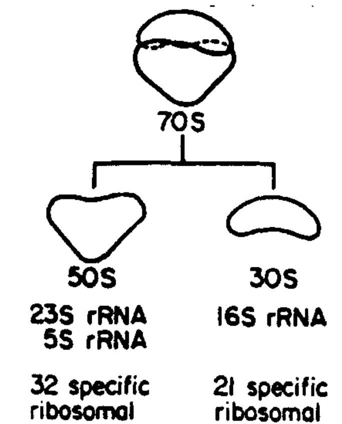
ويحتوى الرايبوسوم على إنزيم Ribonuclease ، الذى يقوم بواسطة التحلل المائى ، بفك r-RNA من m-RNA ، بعد تخليق السلسلة الببتيدية .

وعندما رُسِّبت رايبوسومات الخلية البكتيرية بجهاز الطرد المركزى ، وجد أن معامل ترسيب الرايبوسومات Sedimentation coefficient يساوى 70S (أى ٧٠ وحدة من وحدات سفدبرج Svedberg units) ، ووجد أن الوحدة من الرايبوسوم البكتيرى ، تتكون من تحت وحدتين Subunits ، معامل ترسيبهما هو 30S & 50S ، وكل تحت وحدة تتكون من وحدات أصغر [شكل ٥ (٢) - ٢٦] (تحت وحدة 50S لها قابلية للارتباط مع t-RNA ، أما تحت وحدة 30S فلها قابلية للارتباط مع mRNA ، وذلك أثناء تخليق السلاسل الببتيدية) .

وبالمقارنة مع رايبوسومات حقيقيات النواة ، سنجد أن رايبوسومات البكتريا أصغر حجما ، وأخف وزنا ، وأسرع ترسيبا ، من رايبوسومات حقيقيات النواة ، التى معامل ترسيبها 80S ، وتتكون من تحت وحدتين معامل ترسيبهما هو 40S & 60S .

ولهذه الاختلافات بين رايبوسومات البكتريا ورايبوسومات حقيقيات النواة ، أهميتها العلاجية من العدوى ، فالمضادات الحيوية التى توقف تخليق البروتين بواسطة رايبوسومات البكتريا التى من نوع70S ، لاتؤثر على رايبوسومات حقيقيات النواة التى من نوع 80S .





شكل ٥ (٢) - ٢٦ :

يسار : صورة بالمجهر الالكترونى توضح رايبوسومات *E coli*

70S : موضحة بسهم به ٣ رؤوس .

50S : موضحة بسهم به ٢ رأس .

30S : موضحة بسهم به رأس واحدة

- البار يمثل ١٠٠ نانومتر

يمين : مقارنة تخطيطية بين مكونات الرايبوسوم

وحدات سفدبرج : Svedberg units

ينسب اسم الوحدات الى العالم السويدى سفدبرج Svedberg ، صاحب الإضافات الهامة فى مجالات الترسيب بالطرد المركزى ، ووحدة سفدبرج Svedberg unit (S) ، وقد تسمى أيضا بمعامل الترسيب Sedimentation coefficient ، هى معدل سرعة رسوب الحبيبات (جزيئات كبيرة Macromolecules) ، الموجودة فى معلق مائى درجة حرارته ٢٠°م، عند ماتتعرض تلك الحبيبات لتأثير وحدة واحدة من وحدات الجاذبية الأرضية ، بمعنى أن وحدات سفدبرج ، تعبر عن معدل رسوب حبيبات المادة الموجودة فى معلق ، عندما تتعرض لجاذبية أرضية أو لطرد مركزى .

وتحسب تلك الوحدات باستعمال معادلات خاصة ، تجمع مابين العوامل المختلفة المؤثرة على سرعة ترسيب الحبيبات ، مثل قوة جهاز الطرد المركزى Centrifugal force (F_c) ، حجم الحبيبة (Size) معبرا عنه بوزنها الجزيئى ، وشكل الحبيبة (Shape) معبرا عنه بقوة الاحتكاك Frictional force (F_f) التى بين الحبيبة والمحلول ، وقوة قابلية الحبيبة للطفو Buoyancy force (F_b) ، وكتلة السائل المزاح بواسطة الحبيبة (معبرا عنه بحجم الحبيبة وكثافة المعلق)

وبذلك نحصل على المعادلة النهائية التالية

$$S = \frac{\text{Velocity of particle } (v)}{\omega^2 r} = \frac{dr}{dt} \times \frac{1}{\omega^2 r}$$

حيث S : معامل الترسيب

v : سرعة تحرك الحبيبة

r : المسافة بين الحبيبة وعامود الدوران بالسم

t : زمن الرسوب بالثانية

ω : السرعة الزاوية Angular velocity سم / ثانية

يتناسب معامل الترسيب S طرديا مع كتلة أو كثافة الحبيبة ، كما يكون معامل الترسيب كبيرا فى حالة الحبيبات كروية الشكل مقارنة بالحبيبات عصوية الشكل ، ويتناسب S عكسيا مع زيادة قوة الاحتكاك بين الحبيبة والمحلول .

ونظرا لأن رايبوسومات الخلية متعددة الأحجام والأشكال ، فإنه عندما تتواجد الرايبوسومات فى محلول وتعامل بالطرد المركزى ، فإنها تظهر فى طبقات مختلفة من المحلول طبقا لمعامل ترسيبها ، ولذلك فإنه يميز بين أنواع الرايبوسومات المختلفة بمعامل ترسيبها ، أى بوحدات سفدبرج (S) ، إلى

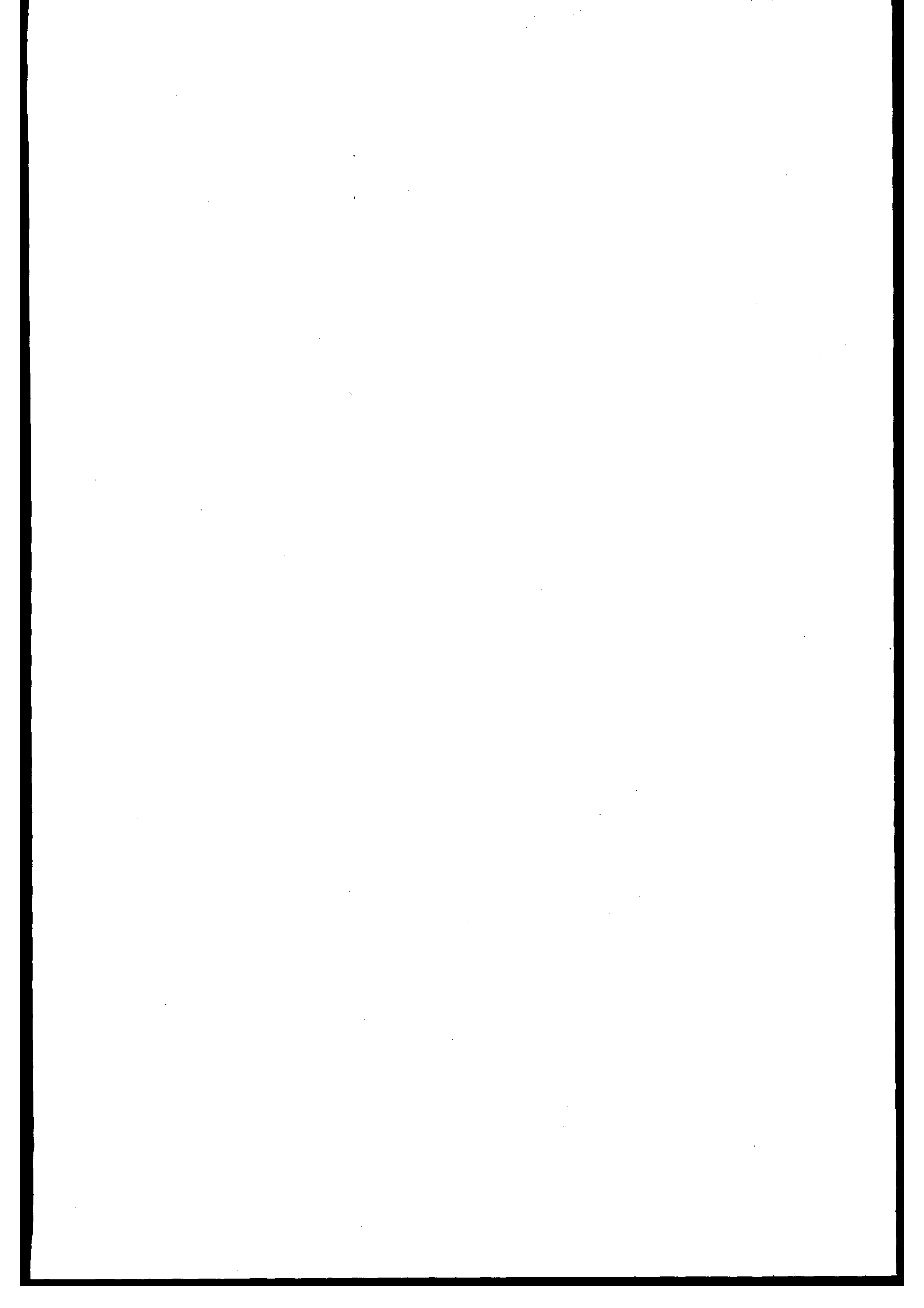
80S (60S & 40S), 70S (50S & 30S), 16S, 18S … etc.

ويلاحظ أن قيم وحدات سفدبرج لاتجمع حسابيا Not additive ، بمعنى أن تحت الوحدة الرايبوسومية الكبيرة 60S عندما تتحد مع تحت الوحدة الرايبوسومية الصغيرة 40S ، فإنه يتكون رايبوسوم 80S وليس 100S .

«الباب الخامس – الفصل الثالث»

المادة النووية البكتيرية

المحتويـــات



(الباب الخامس - الفصل الثالث)

المادة النووية Nucleur material

النــــواه * Nucleus

قبل الخمسينات من القرن الماضى ، كان من الصعب مشاهدة نواة البكتريا وفحصـــها ، لصغر حجمها المتناهى ، ، وعدم وجودها فى مكان محدد بالخلية ، ولكن منذ الخمسينات ومـــع تقدم طرق الفحص الخلوية ، وتطور استخدام المجهر الالكترونى ، أصبح من الممكن التعـــرف على المادة النووية الموجودة بالخلية البكتيرية .

فباستخدام المجهر الضوئى والصبغ بصبغة فولجين Feulgen المتخصصة لصبغ الدنــا DNA ، أمكن التعرف على منطقة النواة بالخلية البكتيرية ، وباســتخدام المجــهر الالكــترونى درست النواة ، وباستخدام الانزيمات المُحــدَّدة (انزيمـــات القطـــع Nucleases ، Restricted enzymes ، الخاصة بكسر حامض الدنا فى أماكن معينة بيـــن القواعـــد النتروجينيـــة ، أمكـــن التعرف على نظام تتابع النيوكليوتيدات بالحامض النووى ، ودراسة تركيب ووظيفـــة الجينـــات بالكروموسوم البكتيرى ، وغالبا مايكون كسر حامض الدنا فى أمـــاكن التمـــاثل بيـــن القواعـــد النتروجينية ، أو فى أماكن التواء خيط حامض الدنا .

المادة النووية ، وتعـــرف أيضـــا بـــالبلازم النـــووى Nucleoplasm ، أو بالجســـم الكروماتينى Chromatin body ، تشغل مساحة متميزة تقع تقريبا بوسط الخلية البكتيرية ، وهى منطقة غنية بحامض الدنا ، وتمثل تلك المنطقة حوالى ٢٠% من حجم السيتوبلازم ويمثل الدنـــا بها حوالى ٢% من الوزن الجاف للخلية ، وتنقسم محتويات المنطقة النووية عند حـــدوث كـــل انقسام خلوى .

وتحت المجهر الالكترونى ، تظهر المنطقة النووية كمنطقة ممتلئة بخيـــوط رقيقـــة ، وذات كثافة أقل من كثافة باقى محتويات السيتوبلازم ، وغير محاطة بغلاف نووى يفصلها عـــن باقى مكونات السيتوبلازم ، وتتصل بالغشاء السيتوبلازمى عن طريق الميسوسوم المركزى .

تركيب الحامض النووى الدنا DNA

تحتوى المنطقة النووية بالخلية البكتيرية على الحامض النووى الدنا ، وهذا الحـــامض هو الحامل للمعلومات الوراثية بالخلية ، والمنظم للتجرثم ، وعملية التكـــاثر ، ولكـــل الأنشـــطة والعمليات الحيوية التى تتم بالخلية .

يشكل حامض الدنا كروموسوما واحـــدا Single chromosome ، مـــزدوج الخيـــوط Double strand ، دائرى مقفول (أى ليس له نهاية حرة) ، ملتف حول بعضه بقوة ، فهو شـــديد الالتفاف Super coiled ، منضغطا ، ذا شكل ليفى ، ويتكون حامض الدنا مـــن نيوكليوتيـــدات عديدة تصل لعدة آلاف ، وتتكون النيوكليوتيدة الواحدة من ثلاث مكونات رئيسية هى

---

* راجع جدول (٢-٣) ص ص ٢٥ ، ٢٦ بالباب الثانى لمعرفة الفروق بين نوايا خلايا بدائية النواة ونوايا خلايا حقيقية النواة .

١ - قاعدة نتروجينية .

٢ - دى أكسى رايبوز ، وهو سكر ذو خمسة ذرات كربون ، ينقص عــن ســكر الرايبــوز ، مجموعة OH- على ذرة الكربون رقم ٢ بالجزىء .

٣ -حامض فوسفوريك .

وتتكون القواعد النتروجينية بالحامض من زوجين من القواعد ، هما قــاعدة البيوريــن Purine base (المكونة من أدنين A ، وجوانين G) ، وقــاعدة الــبريميدين Pyrimidine base (المكونة من سيتوزين C ، وثايمين T) ،

وتتحد المكونات الثلاث السابقة (١ ، ٢ ، ٣) مع بعضها كالآتى

قاعدة نتروجينية + دى أكسى رايبوز ⟵ نيوكلوسيد Nucleoside .

نيوكليوسيد + فوسفات ⟵ نيوكليوتيد Nucleotide .

ويحتوى حامض الدنا على شحنات سالبة ، مصدرها مجموعــــة (OH^-) حــامض الفوسفوريك الداخل فى تركيب النيوكليوتيدات المكونة للحامض النووى ، وتتعادل هذه الشــحنات بواسطة كاتيونات مثل Ca^{2+} & Mg^{2+} ، أو بمركبات عديدة الأمينـــات Polyamines ذات وزن جزيئى صغير ، هى مواد الاسبرمين والاسبرميدين ، ورمزها

سبرميدين Sperimidine

$$\underset{\substack{|\\ NH_2}}{CH_2} - (CH_2)_3 - NH - (CH_2)_2 - \underset{\substack{|\\ NH_2}}{CH_2}$$

سبرمين Spermine

$$\underset{\substack{|\\ NH_2}}{CH_2} - (CH_2)_3 - NH - (CH_2)_4 - NH - (CH_2)_2 - \underset{\substack{|\\ NH_2}}{CH_2}$$

ولايرتبط حامض دنــا البكتريــا ، بالبروتينــات القاعديــة المعروفــة بالهيســتونات Histones* ، كما فى خلايا حقيقيات النواة ، التى يرتبط حامضها النووى الدنـــا بالهيســتونات لمعادلة شحناته السالبة .

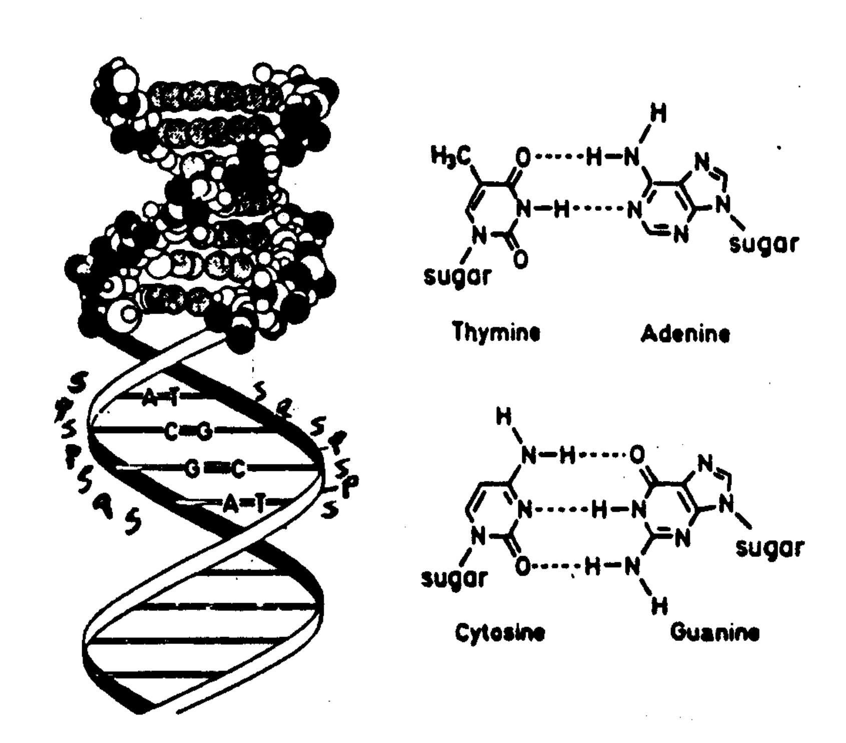
---

* الهيستونات : Histones

بروتينات قاعدية موجبة الشحنة ، تحتوى على نسبة عالية من الأحماض الأمينية القاعدية ، مثل اللايسين والأرجنــين والهيستدين .

نموذج واطسون – كريك للدنا

يتكـــون الحـــامض النـــووى الدنـــا ، حســـب النمـــوذج الـــذى وضعـــه العالمـــان Watson & Crick, 1953 ، من سلاسل طويلة من النيوكليوتيدات [شكل ٥ (٣) – ١] المتصلـة بالتبادل مع البنتوز والفوسفات .



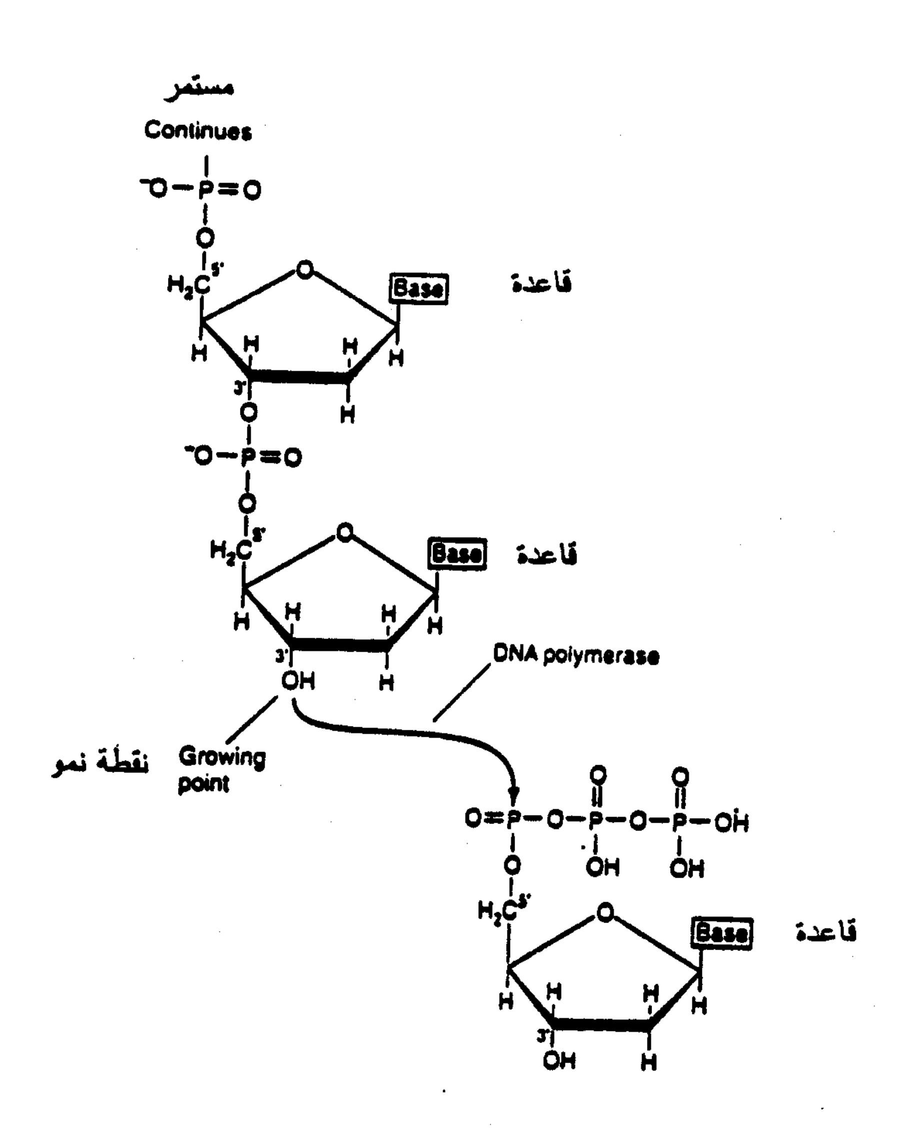
شكل ٥ (٣) – ١ : تركيب حامض الدنا DNA الحلزونى ، مزدوج الخيوط

لاحظ

- تمثل الخيوط العمود الفقرى للدنا ، وهى مكونة مـــن ســـكر S ، وفوســـفات P ، ومتصلة بالقواعد النتروجينية .
- ارتباط القواعد النتروجينية بروابط ايدروجينية
  - زوجية بين الأدنين (A) Adenine ، والثايمين (T) Thymine
  - ثلاثية بين الجوانين (G) Guanine ، والسيتوزين (C) Cytosine
- تشغل كل لفة بالخيط المزدوج مسافة ٣٤°A
- قطر اللفة حول المحور حوالى ٢٠°A

فكل نيوكليوتيدة ، ترتبط بالنيوكليوتيدة التالية لها عن طريق الفوسفات ، حيث يرتبط الفوسفات بالسكر فى القاعدة الأولى فى وضع ٥- ، ويرتبط الفوسفات بالسكر فى القاعدة التالية فى الوضع ٣- ، ويستمر نظام الارتباط هكذا على طول السلسلة [شكل ٥ (٣) – ٢] .

وتسمى رابطة الفوسفات مع السكر فى القاعدتين المتتاليتين ، برابطة الفوسفات ثنائية الاستر Phosphodiester bond ، وتكون عملية البناء دائما فى الاتجاه ٥- الى ٣- ، وسلاسل الحامض النووى حلزونية الشكل ، مزدوجة الخيوط ، تدور حول محور مركزى لتكون حلزونا مزدوجا Double helix ، ذو لفات ، وتتكون باللفة الواحدة من حوالى ١٠ قواعد نتروجينية .



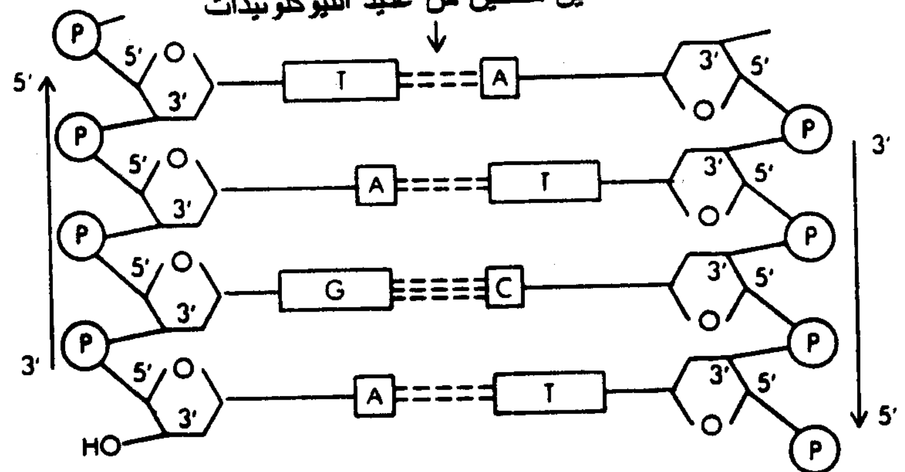
شكل ٥ (٣) – ٢ : تركيب سلاسل الدنا DNA وطريقة إرتباط النيوكليوتيدات ببعضها .

والسلسلة ذات مظهر قطبى Polar ، حيث تقع مجموعة الفوسفات فـــى طـــرف أحـــد النهايات عند الوضع ٥⁻ ، وتقع مجموعة الهيدروكسيل الحرة ، فى طرف النهاية الأخرى عنـــد الوضع ٣⁻ [شكل ٥ (٣) - ٣] .

المادة النووية (الدنا) من خلية البكتريا

خيط الدنا

سلسلتين ملتفتين من عديد النيوكلوتيدات



كل سلسلة تتكون من قواعد نتروجينيه (بداخل السلسلة)
متصلة بسكر فوسفاتى (بخارج السلسلة)

سكر
فوسفات
القواعد متصلة مع بعضها
بروابط ايدروجينية
سكر
فوسفات

شكل ٥ (٣) - ٣ : دنا DNA الخلية البكتيرية وتركيبه .

القواعد النتروجينية الموجودة بسلاسل حامض الدنا ، مكملة لبعضها ، وخاصية التكامل Complementation بين قواعد سلسلتي الدنا ، تجعل حامض الدنا منفردا في قدرته على حفظ ونقل المعلومات الوراثية من كائن لآخر .

وبالإضافة إلى أن سلسلتي الدنا متكاملتين ، فإنهما في توازى متعاكس Antiparallel ، بمعنى أن إحدى السلسلتين تكون في الوضع ٣ ← ٥ ، بينما الأخرى تكون في الوضع ٥ ← ٣ .

وتوجد القواعد النتروجينية بالنيوكليوتيدة بكميات متساوية ، حيث C = G , T = A ، كما أن مجموع البيورينات مساو لمجموع البرميدينات ، ولكن نسبة أزواج القواعد النتروجينية A+T/G+C Base pair ratio ، وإن كانت ثابتة بالنسبة للنوع الواحد ، إلا أنها تختلف بين الأنواع المختلفة ، وهى لذلك تعتبر صفة تقسيمية بين الأنواع ، كما أن كمية ماتحتويه الخلية من GC ثابتة للنوع ، وتعتبر أيضا صفة تقسيمية بين الأنواع .

ويرجع الثبات الوراثي في الكائنات الحية ، الى ازدواج جزيء الدنا ، حيث يعمل أحد خيطي شريط الدنا ، كقالب لاصلاح الخيط الآخر ، وذلك للتكامل بين النيوكليوتيدات الموجودة على كلا الخيطين ، فأى تلف أو فقد لأى قاعدة بأحد الخيطين ، يتم بناؤها من خلال القاعدة النتروجينية للنيوكليتويدة المقابلة (أنظر ص ٥٥٧) .

ومن الدراسات التى أجريت على بكتريا *E. coli* ، وجد أن طول الكروموسوم (المفرود) حوالى ١,٤ مم ، (ويعتبر هذا الطول أطول بآلاف المرات من طول خلية *E. coli* التى تحتويه ، والتى طولها حوالى ١,٠ ميكرومتر) ، وسمكه حوالى ٢٥ نانومتر ، ووزنه النوعى حوالى ٢,٩ × ١٠^٩ دالتون ، وأن طول ١ ميكرومتر من دنا مزدوج الخيوط ، يحتوى على حوالى ٣٠٠٠ زوج من القواعد base pair (bp) ، أى ٣ كيلو أزواج قواعد kilo base pairs (kbp) ، وزنها حوالى ٢ × ١٠^٦ ، ويتضاعف كروموسوم *E. coli* في فترة تتراوح من ٢٠ الى ٤٠ دقيقة ، وذلك حسب ظروف الوسط .

وكما هو واضح من [شكل ٥ (٣) - ١] ، فإن القواعد النتروجينية الموجودة بالسلسلة، ترتبط مع بعضها بروابط من الايدروجين ، رابطة زوجية بين قاعدتى الأدنين A والثايمين T (A=T) ، ورابطة ثلاثية بين قاعدتى الجوانين G والسيتوزين C (G ≡ C) ، وهى روابط غير متساوية ، كما أنها ضعيفة ، وتتأثر هذه الروابط بالحرارة ، حيث يؤدى ارتفاع الحرارة الى كسر الروابط الموجودة بين القواعد وفك الالتفاف الحلزونى لحامض الدنا ، كما تتأثر هذه الروابط بتغير تركيز المغنسيوم ، أو بإضافة اليوريا إلى الوسط ، أو بزيادة كمية الضوء الممتص عند طول موجى ٢٥٩ نانومتر .

وزن جزيء الدنا DNA

النيوكليوتيدة هى وحدة بناء الدنا،والوزن الجزيئى للنيوكليوتيدة الواحدة ٣٣٠ دالتون ، ويتكون الدنا من عدة آلاف من النيوكليوتيدات ، ولذا فإن وزن جزيء الدنا كبير جدا ، يتراوح من عدة ملايين فى جزيئات الفيروسات الصغيرة ، إلى عدة مليارات فى الخلايا العادية .

ولصعوبة التعامل مع هذه الأوزان العالية ، فقد أتفق على استخدام مقياس أسهل من ذلك لتقدير حجم جزيء الدنا ، وهو عدد النيوكليوتيدات الموجودة فى جزيء الدنا ، والألف نيوكليوتيدة يعبر عنها بكيلو قواعد Kilo base, kb ، (أو هى تساوى طول ألف نيوكليوتيدة). ونظرا لأن الدنا يوجد فى صورة لولب مزدوج ، فإن القياس يكون بالتعبير عن كيلو أزواج

القواعد التى توجد بالجزىء Kilo base pairs, Kbp• ، (وهى تساوى طـول ألـف زوج مـن النيوكليوتيدات) ، فإذا ذكر على سبيل المثال ، أن حجم جينوم *E. coli* هو ٤٧٠٠ Kbp ، فـإن ذلك يعنى أن جزىء جينوم *E. coli* يحتوى على ٤٧٠٠ كيلو من أزواج القواعد النتروجينيـة ، وأن طوله يساوى طول ٤٧٠٠ قاعدة من النيوكليوتيدات .

تخليق حامض الدنا : DNA biosynthesis

يتطلب تخليق حامض الدنا ، توفر النيوكليوتيدات بوسط النمو ، غير أن بعض أنـواع البكتريا ذات الاحتياجات الغذائية البسيطة ، قادرة على تخليق ماتحتاجه من نيوكليوتيـدات مـن مواد بسيطة مثل الجلوكوز وكبريتات الأمونيوم وبعض المعادن ، ويتم ذلك التخليق فى سلسـلة من التفاعلات الانزيمية المعقدة ، التى يحتاج أغلبها إلى توفر طاقة فى صـورة ATP . وبعـد تخليق النيوكليوتيدات ، تقوم البكتريا بتكوين عديد النيوكليوتيدات ، لتكوين خيط الدنـا الجديـد ، اللازم لعمل السلسلة المزدوجة الخيوط لحامض الدنا . وخيط الدنا الحديث التخليق (البنـوى) ، يعتبر مكملا لخيط الدنا القديم التكوين (الأبوى) ، الذى يعتبر قالبا للخيط البنوى حديث التخليـق (راجع تضاعف خيوط حامض الدنا ، ص ٢٦٣ ومايليها] .

وبصفة عامة يتم تخليق الدنا كالآتى

$$\text{Nucleotide + ATP} \xrightarrow{\text{Kinase}} \text{Nucleotide phosphate + ADP}$$

$$\text{Nucleotide phosphate + ATP} \xrightarrow{\text{Kinase}} \text{Nucleotide diphosphate + ADP}$$

$$\text{Nucleotide diphosphate} \xrightarrow[\text{Mg}^{2+}]{\text{DNA polymerase}} \text{New strand DNA + PPi (inorganic pyrophosphate)}$$

فصل الدنا من البكتريا

فصل الدنا من خلايا البكتريا أسهل بكثير من فصله من خلايا الكائنات الأخرى ، ولعـل هذا هو الذى سهل دراسة علم الوراثة الجزيئية ، والتعرف على ميكانيكية عمل الدنا فـى نقـل الصفات الوراثية .

• يستخدم مصطلح كيلو أزواج من القواعد Kbp ، للتعبير عن حجم الجينوم للبلازميد أو للحامض النووى المزدوج الخيوط ds .

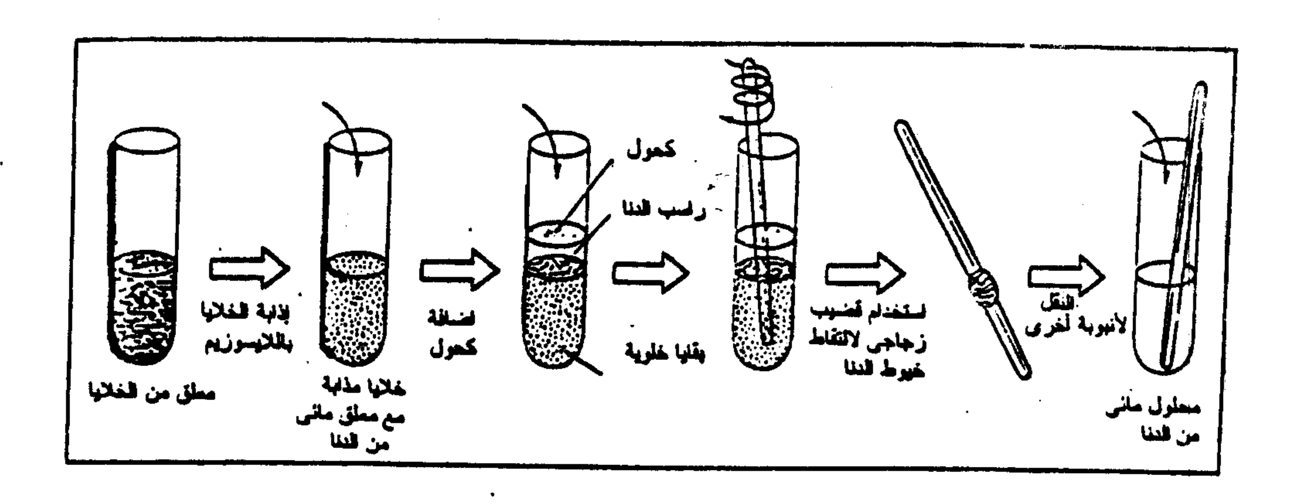
ويستخدم مصطلح كيلو قواعد Kb ، للتعبير عن حجم جينوم الحامض النووى المفرد الخيوط ss .

ويعبر عن طول الدنا بالكيلو قاعدة .

ويستخدم الدالتون D والكيلو دالتون KD ، للتعبير عن الوزن الجزيئى للمواد ، مثل البروتينات والنيوكليوتيدات .

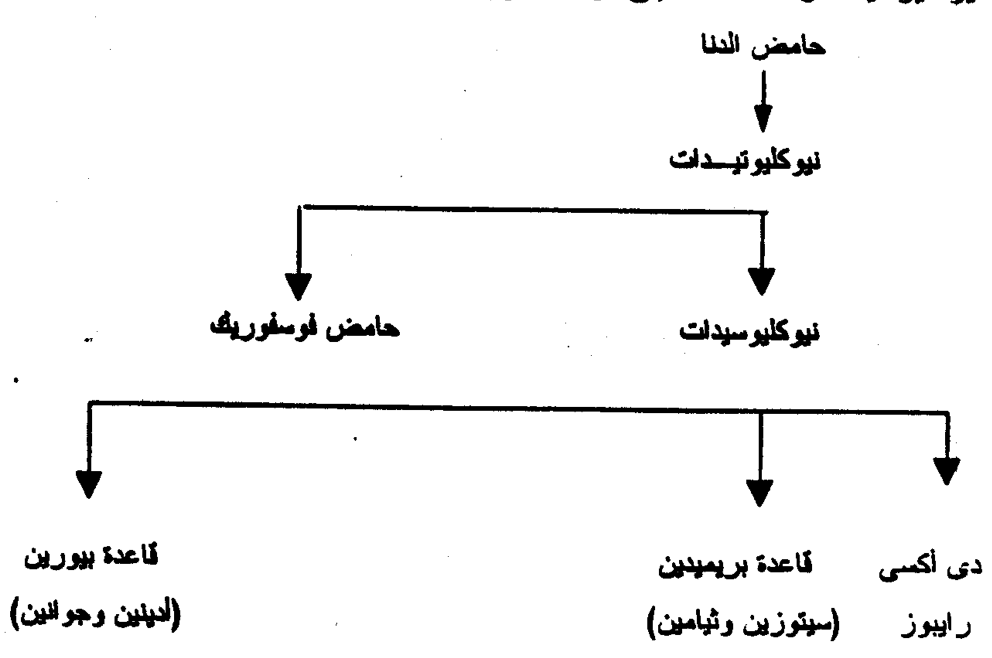
وأول متطلبات فصل الدنا ، هو تحليل الخلايا البكتيرية بواسطة اللايسوزيم ، وبذلك نحصل على معلق مائي يحتوى على الدنا ، ثم التخلص من البروتينات باستخدام الفينول ، والتخلص من الرنا RNA باستخدام Ribonuclease ، وبتكرار خطوات الفصل والتنقية عدة مرات ، نحصل على معلق الدنا الخالى من أى مكونات أخرى .

وشكل [٥ (٣) – ٤] ، يبين إحدى طرق استخلاص الدنا من خلايا البكتريا



شكل ٥ (٣) – ٤ : استخلاص الدنا من خلايا البكتريا .

وعندما يتحلل حامض الدنا ، الى مركبات ذات وزن جزيئى أقل ، فإن التحلل يمر بخطوات عكسية لخطوات تخليقه ، حيث تؤدى إزالة الفوسفات من النيوكليوتيده ، الى تكوين نيوكليوسيد ، وهذه تتحلل إلى قواعد نتروجينية وسكر بنتوز .



جينوم البكتريا : Genome of bacteria

الجينوم هو الطاقم الوراثى الموجود بالخلية ، أى مجموع الجينات الموجودة بها ، ويختلف عدد الجينات بإختلاف النوع البكتيرى وبإختلاف ظروف النمو البيئية ، ويصل عدد الجينات فى بكتريا *E. coli* ، على سبيل المثال ، إلى حوالى ٥٠٠٠ جين بالخلية الواحدة .

تحمل الجينات المعلومات الوراثية للخلية ، وعادة فإن لكل جين أليل واحد One allele ، لذا تعتبر البكتريا فردانية المجموعة الكروموسومية Haploid, 1N ، وإن كان قد وجد أن بعض الخلايا البكتيرية ، مثل تلك الحاملة لبلازميد عامل الخصوبة F-factor ، وجد بها كروموسومات أو أجزاء من كروموسومات ، ضعفائية المجموعة الكروموسومية Diploid, 2N (أى تحتوى على زوج من الكروموسومات ، أو على زوج من أجزاء الكروموسومات) .

يتكون الجين من مجموعة من النيوكليوتيدات الموجودة بسلاسل حامض دنا النواة ، وكل جين يعبر عن صفة معينة ، والمعلومات الوراثية لجين ما ، مشفرة بالقواعد النتروجينية المكونة للنيوكليوتيدات الخاصة بذلك الجين ، فإذا ماحدث تغيير فى التركيب الكيميائى للنيوكليوتيدات أو لترتيب تتابع القواعد النتروجينية بها ، فإن ذلك يؤدى إلى حدوث تطفر Mutation ، نتيجة للتعبير الخاطىء للجين ، الذى يسبب حدوث تعبير خاطىء فى السلسلة الببتيدية الجارى تخليقها ، أو الى عدم تكون تلك السلسلة على الإطلاق .

البلازميدات : Plasmids

البلازميد عبارة عن مادة وراثية ذات تركيب جينى من حامض الدنا ، توجد بسيتوبلازم الخلية البكتيرية خارج الكروموسوم Extrachromosomal DNA ، متحدة بالكروموسوم ، أو بعيدة عنه أى غير متحدة به .

فبالإضافة إلى حامض الدنا الكروموسومى (المكوِّن لكروموسوم البكتريا) ، فإن كثيرا من أنواع البكتريا تحتوى على حامض دنا دائرى ، مقفول ، مزدوج الخيط ، قادر على التضاعف الذاتى ، وعلى الانتقال من خلية بكتيرية لأخرى . ويقع هذا الحامض خارج الكروموسوم فى تركيبات تعرف بالبلازميدات ، ومنه مايكون متحدا بالكروموسوم ويتكامل معه فى عمله ، ويسمى ابيسوم Episome ، مثل عامل الخصوبة F-factor فى بعض أنواع البكتريا.

يتوقف حجم البلازميد على مايحتويه من جينات ، إذ يتراوح حجم البلازميد من واحد الى ألف كيلو زوج من القواعد ، كما يختلف العدد من بكتريا لأخرى ، ويصل أعداد البلازميدات فى بكتريا *E. coli* مثلاً ، إلى ٣٠٠ بلازميد ، ويمثل البلازميد حوالى ١-٣% من كمية حامض الدنا الكلية الموجوده بالخلية البكتيرية .

ويمكن استبعاد البلازميد من الخلية الحاملة له ، وقد يحدث ذلك ذاتيا ، أو باستخدام وسائل مناسبة ، مثل الاشعاع ، أو صبغة الأكريدين Acridine dye ، أو المعادن الثقيلة ...الخ، وتؤدى هذه الوسائل إلى إيقاف نشاط البلازميد أو تثبيط تكاثره ، فيتناقص عدده بالخلية مع تكاثرها حتى يختفى .

ويتم تكاثر البلازميد فى البكتريا السالبة لصبغة جرام ، من نقطة الابتـداء Initiation point ، التى تقع فى موقع محدد على البلازميد ، ويتم التكاثر فى إتجاهين Bidirectional حول البلازميد ، بطريقة تشبه تلك التى تحدث عند تضاعف الكروموسـوم البكتـيرى ، أمـا تكـاثر البلازميد فى البكتريا الموجبة لصبغة جرام ، فيتم بنظام الحركة الدوارة Rolling circle mode (راجع تضاعف خيوط حامض الدنا ، بالصفحات التالية) .

دور البلازميـد

لايحمل البلازميد جينات أساسية لحياة الخلية ، ولايشارك فى عمليات الأيض الغذائـى الخلوى ، ولكنه يحمل بعض المعلومات الوراثية ، التى تكسب الخلية البكتيرية الموجودة بـها ، خصائص وصفات خاصة ، وكأمثلة على ذلك :

- إكتساب الخلية البكتيرية خاصية نقل الدنا من خلية مانحة الـى خليـة مسـتقبلة ، ويسـمى البلازميد الذى يُكسب الخلية هذه الخاصية ، بلازميد الـتزاوج Conjugation plasmid ، أو بلازميد الخصوبة F plasmid ، أوعامل الجنس Sex factor ، أو عامل الخصوبة F factor، ومن عوامل الجنس مايتحد بكروموسوم الخلية .
- إكتساب الخلية البكتيرية خاصية المقاومة لبعض العقاقير أو المضادات الحيوية أو الصبغـات أو المعادن الثقيلة ، ويسمى البلازميد الذى يكسب الخلية هـذه الصفـة ، عـامل المقاومـة R factor ، أو بلازميد المقاومة R plasmid .
- إكتساب الخلية البكتيرية القدرة على إنتاج أورام Tumours بالعائل الذى تصيبه ، مثل بكتريا *Agrobacterium tumefaciens* عندما تحمل البلازميد Ti ، الذى يحث على حدوث مـرض التدرن التاجى ، بالنبات المصاب بتلك البكتريا الحاملة للبلازميد Ti .
- إكتساب الخلية البكتيرية القدرة على انتاج بكتريوسينات * أو إنتاج توكسينات ، كما فى بكتريـا القولون الحاملة للبلازميدات الخاصة بإنتاج تلك المواد .
- إكتساب الخلية البكتيرية القدرة على الالتصاق والنمو فى الموضع المناسب من العائل ، ممـا يزيد من حـدة البكتريـا المرضيـة ، كمـا فـى بكتريـا القولـون المعويـة الممرضـة Enteropathogenic *E. coli* ، الحاملة لبلازميد الاسـتيطان Colonization factor ، وهـذا العامل يعطى لخلية البكتريا ، القدرة على الالتصاق بخلايا الطبقة الطلائية للأمعاء .

بلازميد الخصوبة فى بكتريا *E coli*

يصل حجم هذا البلازميد إلى حوالى ١٠٠ كيلو مـن أزواج القواعـد ، وقـد يوجـد البلازميد بعيداً عن الكروموسوم البكتيرى ، أو متحداً به، ويسمى البلازميد المتحد بالكروموسوم

---

* بكتريوسينات Bacteriocins : بروتينات سامة تكونها البكتريا الحاملة للبلازميد المولد لهذه البروتينـات ، وهـى مواد قاتلة للبكتريا الأخرى ، من نفس نوع البكتريا المنتجة للتوكسين أو أنواع أخرى قريبة منها ، ولكـن لاتحمل عامل البلازميد، المولد لتلك البروتينات .

باسم إبيسوم Episome ، ويطلق على سلالة *E. coli* ذات الابيسوم ، سـلالة بكتيرية عالية التكرار High frequency recombinant strain, Hfr strain ، وتمتاز هذه السلالة بقدرتها العالية على التكرار عند حدوث إتحاد جينى ، مقارنة بالسلالة الأخرى ذات عامل الخصوبة غير المتحد بالكروموسوم البكتيرى .

يحمل عامل الخصوبة جينات التزاوج ، وجينات التحكم فى إنتقال المادة الوراثية (الدنا) من الخلية المانحة الى الخلاية المستقبلة ، كما يحمل جينات التحكم فى تكوين شعيرات الخصوبة F pili (التى من خلالها تنتقل المادة الوراثية من خلية لأخرى) . ويقع عامل الخصوبة فى منطقة بالبلازميد تسمى Tra region ، وهى منطقة مميزة بالبلازميد ، وكبيرة نسبياً ، ويصل حجمها الى ٣٠ كيلو زوج من القواعد .

بلازميدات المقاومة : R plasmids, R-factors

من البلازميدات الهامة التى توجد فى بعض أنواع الخلايا البكتيرية ، بلازميدات المقاومة R plasmids ، لبعض العقاقير أو المضادات الحيوية أو المعادن الثقيلة . وتحمل هذه البلازميدات جينات ، تكوّن بالخلية بروتينات لها دور فى مقاومة البكتريا للعقار ، أو إفساده ، أو التأثير على دخوله إلى داخل خلية البكتريا .

وعلى سبيل المثال ، فإن بلازميد R100 ، يحمل جينات المقاومة لبعض المضادات الحيوية ، علاوة على جينات مقاومة الزئبق . وهذا البلازميد قادر على الانتقال ذاتيا بين البكتريا المعوية من أجناس: *Escherichia, Klebsiella, Proteus, Salmonella & Shigella*، بينما لاينتقل هذا البلازميد بين أجناس البكتريا غير المعوية .

تضاعف خيوط حامض الدنا : Replication of DNA strands

قبيل إنقسام الخلية البكتيرية ، تنفك سلسلتى الدنا ، المكونتين للكروموسوم البكتيرى ، وتعمل كل سلسلة كقالب Template ، لتكوين سلسلة جديدة عديدة الببتيدات ، مكملة تماما لسلسلة القالب ، وبذلك ينشأ حلزونين جديدين Two new helices ، كل حلزون Helix منهما يشبه الحلزون الأبوى تماماً ، ويذهب كل حلزون من الحلزونين البنويين الجديدين ، إلى إحدى الخلايا البنوية الناتجة بالإنقسام من الخلية الأم .

هذا النوع من التضاعف للمادة الوراثية البكتيرية ، الذى تعمل فيه إحدى السلاسل عديدة النيوكليوتيدات ، كقالب لتخليق سلسلة جديدة مكملة لسلسلة القالب تماما ، يطلق عليه تضاعف شبه متحفظ Semi-conservative replication ، لأنه مع كل تضاعف ، تتكون سلسلة جديدة مع سلسلة قديمة محافظ عليها .

الحلزون البنوى الجديد Daughter helix الذى تم تخليقه ، يتكون من خيط قديم (محافظ عليه) ، وخيط آخر جديد مكمل للخيط القديم ، مما يعنى أنه يتم الاحتفاظ بخيط أبوى واحد فقط فى كل حلزون من الحلزونات البنوية الناتجة .

طرق تضاعف جزىء الدنا

يوجد ثلاث طرق لتضاعف جزيئات الدنا ، هى

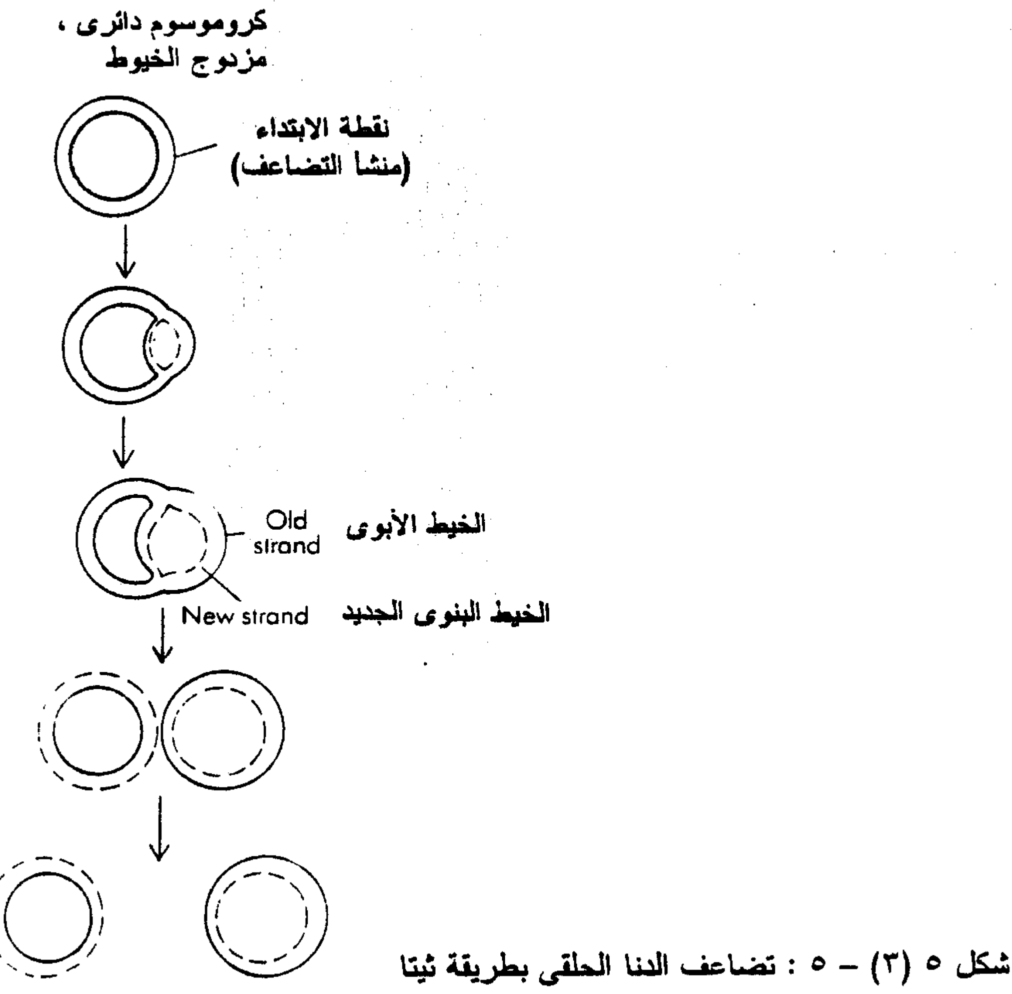
١-طريقة ثيتا θ (Theta) mode θ

فى هذه الطريقة يبدأ تضاعف الدنا الحلقى ، عند نقطة محددة ، تقع على جزىء الدنا ، تسمى منشأ التضاعف Origin of replication ، أو نقطة الابتـداء Initiation point ، وهى مواقع متخصصة Specific sites لكل نوع بكتيرى ، وهى التى تنظم عملية تضاعف الدنا .

وتتكون نقطة الابتداء من تتابعات خاصة من القواعد النتروجينية ، يبلغ عددها حوالى ٣٠٠ قاعدة ، ويتم التعرف على هذه القواعد ببروتينات البدء Initiation proteins . وعند نقطة الابتداء يتم كسر سلسلة الدنا المزدوجة وفك الحلزون بإنزيم هليكيز Helicase ، فيتكون عند منطقة النمو ، شوكة التضاعف Replication fork ، ثم تبدأ عملية تضاعف الدنا .

ومع تقدم عملية تضاعف الدنا ، تتحرك نقطة النمو Growth point (شوكة التضاعف) مع نمو واستطالة جزىء الدنا ، ويتم تضاعف الدنا فى إتجاهين حول الكروموسوم ، مما يؤدى الى تكوين فقاعة Bubble ، وتزداد الفقاعة فى الحجم مع استمرار تضاعف الدنا .

تسمى هذه الطريقة بطريقة ثيتا Theta ، لأن شكل جزيئات الدنا الوسطية التى تتكون أثناء مراحل التضاعف ، تشبه شكل الحرف الاغريقى ثيتا θ ، وفى طريقة ثيتا للتضاعف ، يتضاعف الكروموسوم الحلقى الأبوى ، من نقطة النمو Growth point ، إلى كروموسومين حلقيين بنويين Two daughter chromosomes ، ويوجد بكل كروموسوم بنوى خيطين ، أحدهما أبوى محافظ عليه من جزىء الدنا الأبوى ، والآخر بنوى مخلق من جديد ومكمل لخيط الجزىء الأبوى المحافظ عليه . والشكل [٥ (٣) - ٥] ، يوضح طريقة ثيتا لتضاعف جزيئات الدنا الحلقيـة .



شكل ٥ (٣) – ٥ : تضاعف الدنا الحلقى بطريقة ثيتا

لاحظ وجود نقطة ابتداء واحدة تنمو فى إتجاهين ، أى يوجد منطقتى نمو .

٢–طريقة سيجما σ , (طريقة التضاعف بنظام الحلقة الدوارة)
σ (Sigma) or Rolling circle mode

فى هذه الطريقة من التضاعف ، تتحلل رابطة الفوسفات ثنائية الأستر Phosphodiester bond ، فى خيط واحد من خيوط جزىء الدنا الحلقى ، بواسطة انزيم اندونيوكلييز Endonuclease ، فيحدث شق (كسر) Nick بالخيط له نهايتى هيدروكسيل –٣ (3^{-}-OH) وفوسفات –٥ $(5^{-}\text{-}PO_4)$. ويعمل الخيط الحلقى المتكامل مع الخيط المكسور كقالب ، لتخليق خيط جديد يرتبط تساهميا مع النهاية 3^{-} - OH للخيط الأبوى المكسور Nicked parental strand .

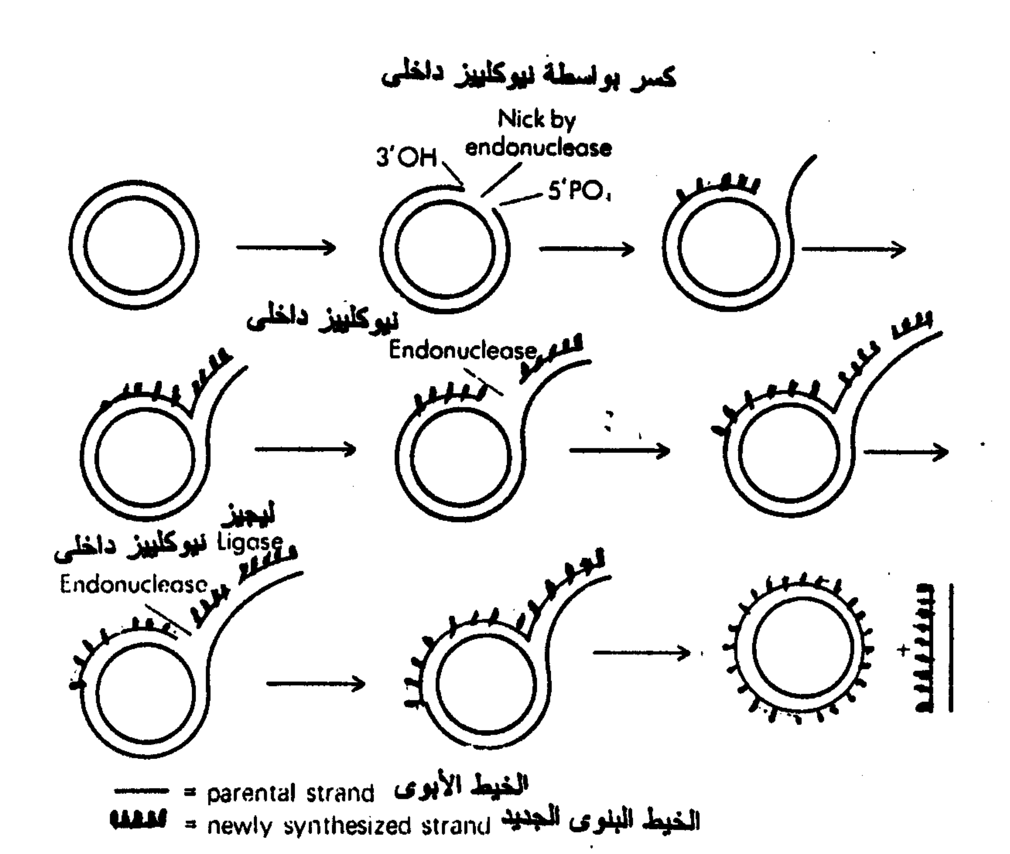
وبتقدم بناء الخيط الجديد عند النهاية OH - 3^{-} ، فإن النهاية الأخرى $5^{-}\text{-}PO_4$ لنفس الخيط تزاح ، لتكون ذيلا على الحلقة .

وبإكتمال عملية تضاعف الدنا ، فإن الجزيء الحلقى الأبوى يتحول إلى كروموسومين بنويين ، أحدهما حلقى والآخر خيطى .

وتسمى هذه الطريقة بطريقة سيجما ، لأن أشكال التراكيب الوسطية من جزيئات الدنا التى تتكون أثناء التضاعف ، تشبه شكل الحرف الإغريقى سيجما σ [شكل ٥ (٣) - ٦] .

وتتم طريقة سيجما لتضاعف جزيئات الدنا ، فى بعض البكتريوفاجات مثل الفاج لمدا λ والفاج φ X 174 ، التى يتكون بأنسالها ، دنا من النوع الخيطى . كما تتم طريقة سيجما فى البكتريا القادرة على التزاوج الجنسى ، وكذلك توجد هذه الطريقة فى أغلب الخلايا حقيقية النواة خلال مراحل تكوين البويضات Oogenesis .

[والشكل ٥ (٣) - ٦] يوضح طريقة سيجما لتضاعف جزيئات الدنا .



شكل ٥ (٣) - ٦ : تضاعف الدنا بطريقة سيجما

لاحظ حدوث كسر بخيط الدنا ، ثم إضافة نيوكليوتيدات بإنزيمات البلمرة ، وتكون قطع من الدنا تلتحم مع بعضها بانزيم الليجيز ، ثم حدوث قطع بواسطة انزيم النيوكلييز ، لتكوين وحدات طولية من الدنا

٣- الطريقة الخيطية لتضاعف الدنا : Linear mode

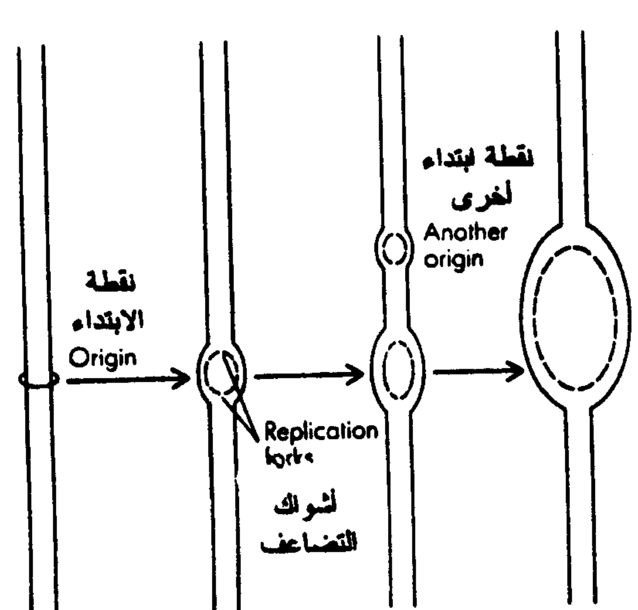
من المعروف أن كل خلايا حقيقيات النواة وكذلك بعض الفيروسات ، تحتوى على جزيئات دنا خيطية وليست حلقية . ويبدأ تضاعف هذه الكروموسومات عند نقاط الابتداء (منشأ التضاعف) Initiation points الواقعة على الكروموسوم ، عن طريق تكوين فقاعات تضاعف Replication bubbles .

قد تحتوى الفيروسات ذات جزيئات الدنا الخيطية الصغيرة ، على نقطة ابتداء واحدة يبدأ منها تضاعف الجزىء ، أما حقيقيات النواة ذات جزيئات الدنا الخيطية الكبيرة ، فقد تحتوى على المئات من نقاط الابتداء ، التى يتضاعف عندها جزىء الدنا .

وبتقدم عملية تضاعف الدنا من نقط الابتداء ، يزداد حجم فقاعات التكاثر ، كما تندمج الفقاعات الصغيرة المتجاورة لتكون فقاعات أكبر فى الحجم .

وباكتمال عملية تضاعف الدنا ، فإن الجزىء الخيطى الأبوى ، يتحول الى كروموسومين خيطيين بنويين من الحلزونيات المزدوجة Linear double-helical daughter molecules ، ويحتوى كل جزىء بنوى على خيط محافظ عليه من الجزىء الأبوى ، وعلى خيط آخر حديث التخليق مكمل للخيط الأبوى .

والشكل [٥ (٣) - ٧] يوضح طريقة التضاعف الخيطى .



شكل ٥ (٣) - ٧ : طريقة التضاعف الخيطية لجزىء الدنا .

لاحظ وجود أكثر من نقطة إبتداء ، وأن النمو فى إتجاهين .

يلاحظ من نظم تضاعف الدنا السابقة ، أن تضاعف جزيئات الدنا فى خلايا بدائيات النواة ، يتم من نقطة إبتداء واحدة لكل جزىء ، بينما يبدأ التضاعف فى خلايا حقيقيات النواة ، من عدة نقاط إبتداء ، توجد بالجزىء الواحد . ولايرجع ذلك إلى طول كروموسوم حقيقيات النواة ، ولكن يرجع إلى أن عملية تخليق النيوكليوتيدات بواسطة DNA polymerase فى حقيقيات النواة ، تكون أبطأ عن تلك الخاصة ببدائيات النواة ، وأن تعدد مراكز إبتداء النمو ، فيه تعويض لبطء النمو .

كما قد يتم تضاعف الدنا من نقطة الابتداء ، فى إتجاه واحد Unidirectional حول الكروموسوم ، أو يتم فى إتجاهين Bidirectional عند كل نقطة ابتداء ، مما يعنى فى هذه الحالة وجود أكثر من نقطة نمو ، فى منطقة الابتداء .

الأحداث التى تقع عند نقطة النمو بالدنا : Events at the growing point

تبدأ عمليات تضاعف خيوط الدنا ، عند نقطة الابتداء Initiation point بالكروموسوم، بكسر سلسلة الدنا المزدوجة وفك الحلزون ، وتكون شوكة التضاعف Replication fork ، ثم تبدأ عملية التخليق ، فيما يعرف بمنطقة النمو Growth point ، ويتم تخليق نيوكليوتيدات خيوط الدنا عند نقطة النمو ، وذلك بمعدل ١٠٠٠ نيوكليوتيدة فى الثانية الواحدة فى بدائيات النواة ، وبمعدل أقل من ذلك فى حقيقيات النواة ، ليصل لحوالى ١٠٠ نيوكليوتيدة فى الثانية .

ويشترك فى عملية تخليق خيوط الدنا العديد من الانزيمات . ويبدأالنشاط بتلك الانزيمات الخاصة بفتح حلزون الدنا الأبوى وفك إلتفافه الحلزونى عند نقط الابتداء ، مع تكون شوكة التضاعف ,

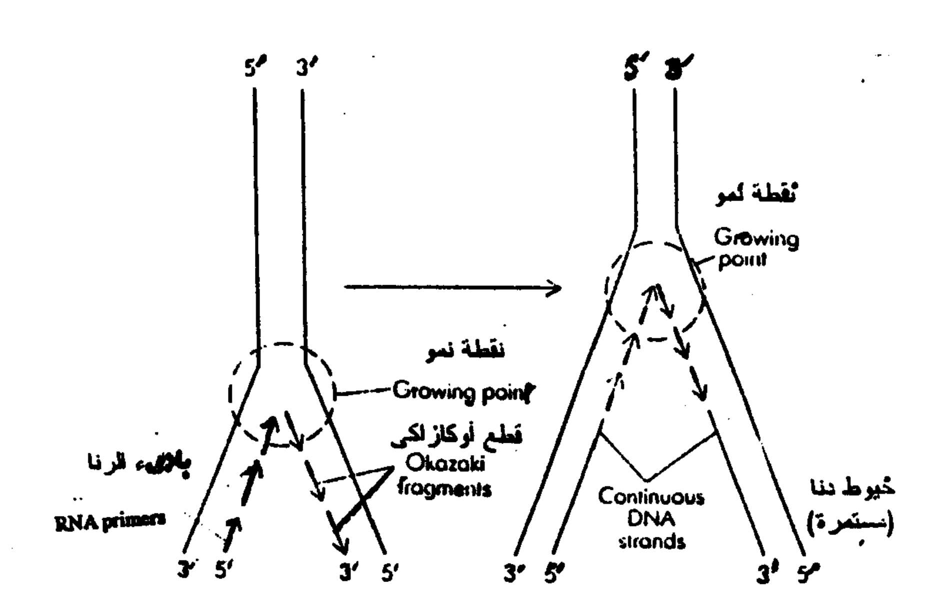
ومن هذا الانزيمات التى تشارك فى بداية النشاط التخليقى

- بروتين فك الحلزون ، هليكيز ، Helix- unwinding protein, Helicase وهو بروتين معتمد على الـ ATP .
- إنزيم خلخلة الحلزون Helix-destabilizing enzyme .

* البروتين المسبب لإيقاف نشاط جزء الدنا الذى تم فكه ، والعمل على استرخاء هذا الجزء المفكوك ، ويسمى هذا البروتين باسم جرييز الدنا DNA gryase . ويتحد هذا البروتين بالمنطقة المفكوكة من الدنا ، ويمنعها من تكوين روابط ايدروجينية ثانية بين السلاسل المفكوكة ، ويعقب ذلك ، نشاط مجموعة أخرى من الانزيمات الخاصة بتخليق النيوكليوتيدات فى مناطق النمو ، وربطها لتكوين خيوط جزىء الدنا .

بعد فتح حلزون الدنا وفك التفافه ، يتضاعف الدنا بشـكل متقطـع Discontinuous ، حيث يتضاعف خيط الدنا بواسطة إنزيمات البلمرة فى الإتجاه ٥‾ الى ٣‾ ، علـى هيئـة قطـع صغيرة Fragments (كل قطعة حوالى ألف نيوكليوتيدة فى الطول) ، تسمى قطـع أوكـازاكى Okazaki fragments (نسبة الى اسم مكتشفها) ويوضح ذلك بالشكل [٥ (٣) – ٨] .

يحتاج إبتداء تضاعف خيوط الدنا ، إلى وجود بادىء الرنـا Primer [1] – RNA [2] وهو عبارة عن تتابع قصير من حامض الدنا ، ويتم تخليق بادىء الرنا بواسطة انزيـم RNA polymerase ، ويعتبر البادىء مكملاً لخيط الدنا ، وهذا الخيط يعمل كقالب للبادىء .



شكل ٥ (٣) – ٨ : التخليق المتقطع بجزىء الدنا لاحظ تكون قطع أوكازاكى فى إتجاه ٥‾ الـى ٣‾ ، ثم التحام القطع مع بعضها بانزيم الليجيز لعمل خيط الدنا المتصل ، مع تحرك نقطـة النمو مع استطالة الدنا .

---

[1] بادىء ، مادة ممهدة ، مبدىء Primer : مادة تضاف الى البيئة الجارى تخميرها ، لتشجيع البكتريا المخمرة على انتاج المادة المطلوبة من التخمير ، كما يحدث عند إضافة بادىء لانتاج المضادات الحيوية .

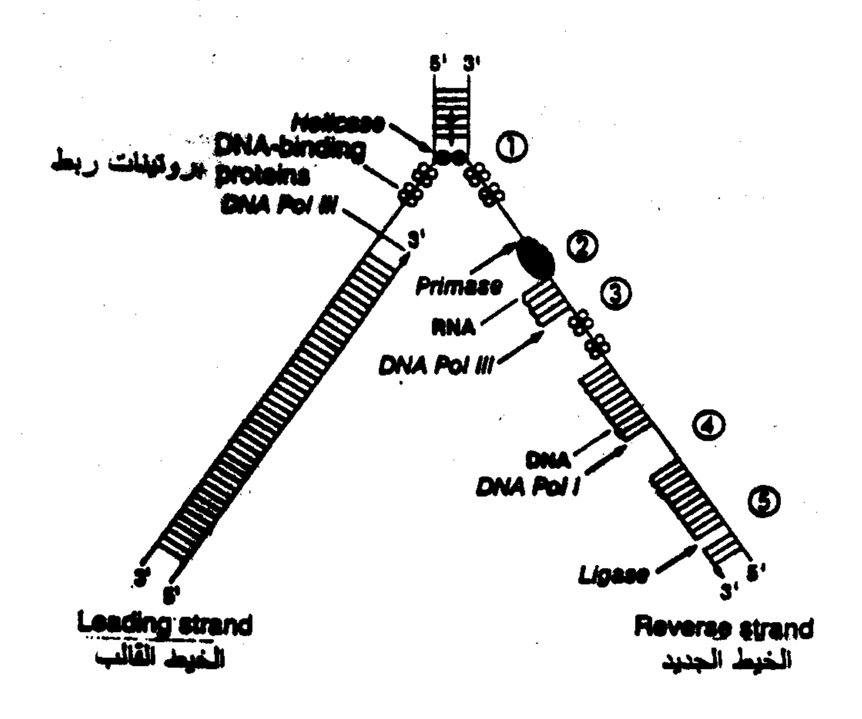
[2] بادئات الرنا RNA primers ، مواد ممهدة لتضاعف الدنا بالخلية . وتعمل بادئات الرنا ، مع انزيم RNA polymerase الذى يحتاج فى نشاطه الى وجود قالب فقط .
أما بادئات الدنا DNA primers ، فإنها تعمل مع انزيم DNA polymerase الذى يحتاج فى نشاطه الى وجود قالب بالإضافة الى وجود بادىء .

تتم البلمرة ، باستخدام نهاية OH - 3^- البادىء لإضافة Nucleotide diphosphate بواسطة إنزيم البلمرة DNA polymerase III ، وعندما تصل البلمرة بهذا الانزيم ، إلى منطقة يكون قد تم فيها بناء قطعة دنا DNA fragment ، يتوقف إنزيم DNA polymerase III عن العمل ، وينفصل ، ويعاود نشاطه ليكون قطعة أخرى جديدة من الدنا ، وبذلك تتكون قطع من الدنا .

يحل انزيم DNA polymerase I مكان انزيم III المنفصل ، حيث يقوم انزيم DNA polymerase I بإزالة البادىء Primer من التركيب ، بقدرته على إجراء القص بدءا من النهاية 5^--PO_4 ، مع التزامن في نفس الوقت بسد الفجوة الناتجة عن النقص ، بدءا من النهاية 3^- ، بواسطة نشاط انزيمات البناء .

كما يستخدم انزيم DNA polymerase I مجموعة الهيدروكسيل 3^--OH الموجودة بقطعة الدنا التى تسبقه ، كبادىء لاطالة وامتداد جزىء الدنا السابق بنائه ، وبعد الازالة الكاملة لبادىء الرنا ، فإنه يتم وصل الشق الموجود بين خيطي الدنا ، بواسطة الانزيم اللاحم DNA ligase وانزيم البلمرة DNA polymerase II .

ويوضح شكل [٥ (٣) - ٩] الأحداث التى تقع ، عند تضاعف حامض الدنا المزدوج الخيوط .



شكل ٥ (٣) - ٩ : تضاعف حامض الدنا المزدوج الخيوط

(1) - كسر الحامض عند نقطة الابتداء بانزيم هليكيز Helicase ، لتكوين شوكة التضاعف

(2&3) - تضاعف خيط القفا بمساعدة البادىء وانزيم البلمرة III على شكل قطع (أمام الخيط القالب) .

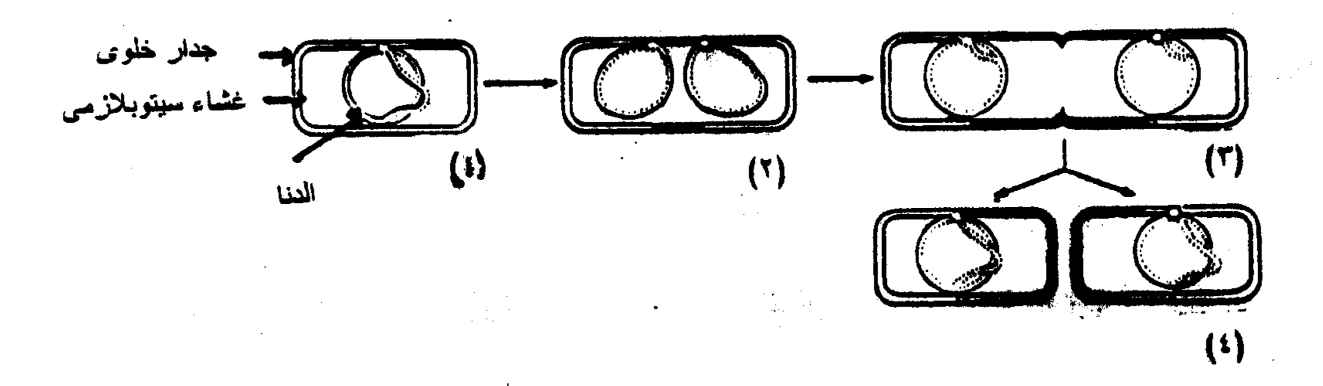
(4) - إزالة البادىء ، مع ملأ الفجوات بانزيم البلمرة I .

(5) - وصل الشق الموجود بين الخيوط بانزيم ليجيز Ligase .

Pol : بوليمريز Polymerase .

تضاعف كروموسوم الخلية

يوضح الشكل [٥ (٣) - ١٠] الشكل العام لتضاعف كروموسوم الخلية البكتيرية وإنقسام الخلية الى أثنتين ، على أساس أن تضاعف الدنا يتم فى إتجاه واحد Unidirectional ، فى وجود نقطة ابتداء واحدة للتضاعف .



شكل ٥ (٣) - ١٠ : تضاعف الكروموسوم الدائرى ، وانقسام الخلية البكتيرية .

يلاحظ من شكل [٥ (٣) - ١٠] الآتى

١ - المادة الوراثية للخلية البكتيرية عبارة عن جزىء دنا واحد ، دائرى ، متصل بغشاء الخلية السيتوبلازمى عند الميسوسوم .

٢- تضاعف الدنا الى كروموسومين ، وذلك قبيل انقسام الخلية الأبوية ، بالطرق السابق ذكرها لتضاعف جزىء الدنا .

ويلاحظ من الشكل أن كلا الكروموسومين الناتجين من التضاعف متصلين بالغشاء السيتوبلازمى للخلية فى موقعين متجاورين .

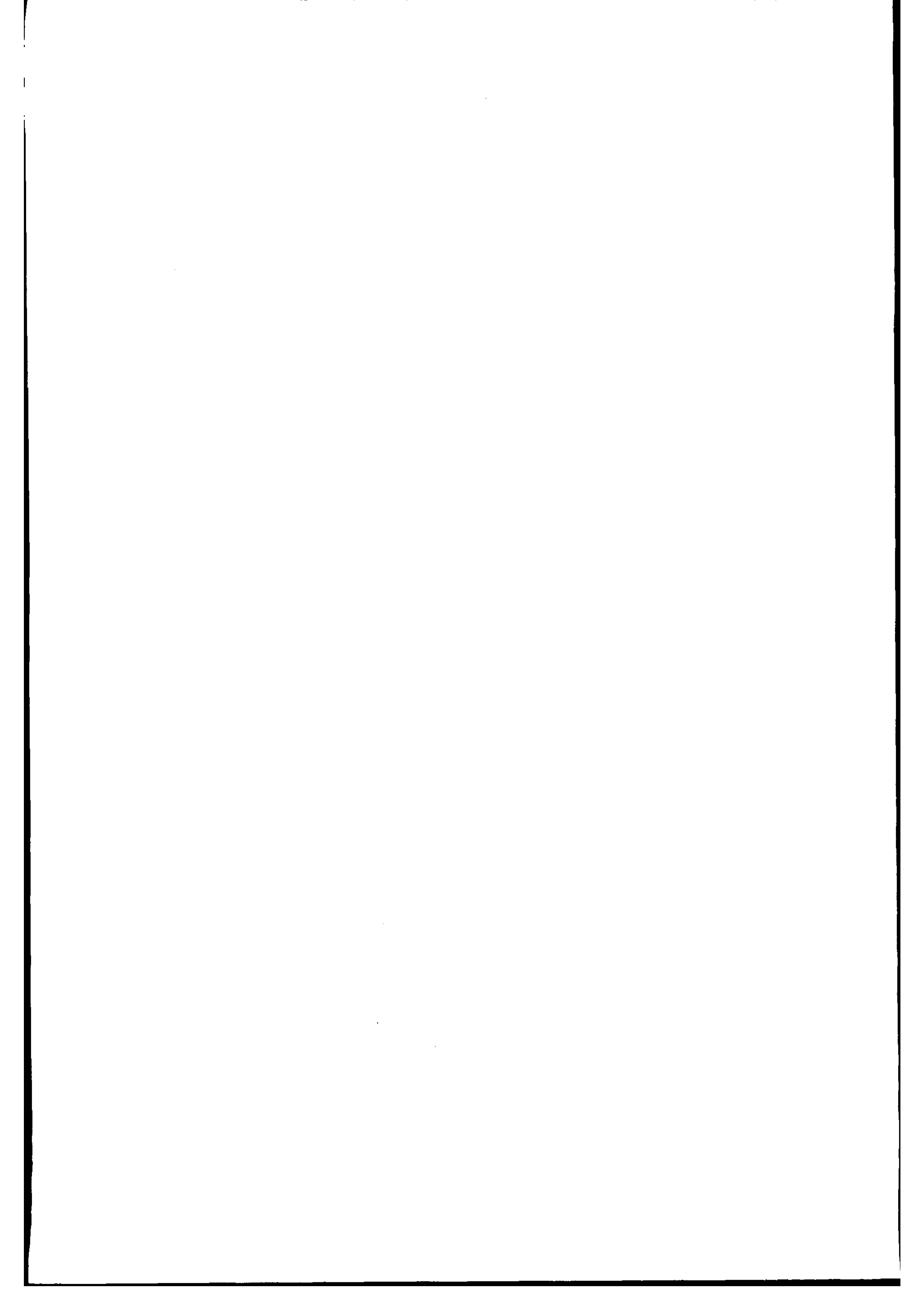
٣- بتقدم إنقسام الخلية ، ينمو غشاؤها السيتوبلازمى فى المنطقة الفاصلة بين موقعى إتصال الدنا بالغشاء (المنطقة السوداء بالشكل) ، فيزداد طول الغشاء بتلك المنطقة ، وعلى ذلك يبتعد موقعى كروموسومى الدنا عن بعضهما .

٤- بعد تمام إنقسام الخلية الأبوية إلى خلويتين بنويتين ، نتيجة تكون جدار عرضى بينهما ، يبقى كروموسوم من كروموسومى الدنا ، بكل خلية بنوية (راجع الباب السادس ، الفصل الأول ، الإنقسام الثنائى البسيط) .

(الباب الخامس – الفصل الرابع)

التجرثم البكتيـــرى

المحتويـــات



«الباب الخامس - الفصل الرابع»

التجرثـــــم البكتيرى Bacterial Sporulation

مقدمـــة

بعض أنواع البكتريا قادرة على تكوين جراثيم لاجنسية ، وتعتبر هذه الجراثيم مرحلـــة سكون أى ذات نشاط أيضى منخفض ، وعندما تتحسن الظروف البيئية ، فإن هذه الجراثيم تعاود النشاط والنمو ، وتكون خلايا خضرية جديدة .

وقد أمكن التعرف على خمسة أنواع من الجراثيم البكتيرية

١ - الجراثيم الداخلية : Endospores

وهى جراثيم توجد داخل الخلية البكتيرية ، ومن الأجناس المكونة لجراثيـــم داخليـــة ، أنواع هوائية مثل *Bacillus* ، وأخرى لاهوائية مثل *Clostridium* .

٢ - الحويصلات : Cysts

تتشكل الحويصلات على الخلايا البكتيرية ، وتتشابه فى بعض صفاتها مـــع الجراثيـــم الداخلية ، وتوجد الحويصلات بصفة خاصة فى جنس أزوتوباكتر *Azotobacter* .

٣ - الجراثيم اللزجـــة : Myxospores

وتتكون هذه الجراثيم بالأنواع التابعة لرتبة Myxobacteriales .

٤ - الجراثيم الكونيدية والإسبورانجية : Conidiospores and Sporangiospores

تتكون هذه الجراثيم بأطراف أو بجوانب الهيفات الهوائية ، لبعض الأجنـــاس التابعـــة لرتبة الأكتينومايسيتات ، وتعتبر هذه الجراثيم وسيلة تكاثر ، بخلاف أنواع الجراثيـــم البكتيريـــة الأخرى ، التى تعتبر مرحلة سكون لحفظ النوع .

٥ - الجراثيم الخارجية : Exospores

وتتكون هذه الجراثيم خارج الخلية البكتيرية ، كما فى البكتريا المؤكسدة لغاز الميثـــان ، مثل جنس *Methylosinus* .

الجراثيم الداخلية : Endospores

تعتبر الجراثيم الداخلية للبكتريا ، أكثر أنواع الجراثيـــم البكتيريـــة أهميـــة ، وأكثرهـــا تعرضاً للدراسات التفصيلية ، وهذه الجراثيم عبارة عن مرحلة ســـكون ، تحمـــى الخليـــة مـــن الظروف البيئية السيئة ، وعندما تتحسن تلك الظروف ، تعاود الجراثيم النشاط والنمو ، وتكويـــن خلايا خضرية جديدة .

وتكوّن الخلية البكتيرية الخضرية الواحدة ، جرثومة داخلية واحدة ، وتنتج الجرثومة الداخلية ، خلية خضرية واحدة ، وهذا يعنى أن التجرثم فى البكتريا (عدا تجرثم الاكتينومايسيتات) ، يعتبر طريقة من طرق حفظ النوع ، وليس طريقة من طرق التكاثر كما فى بعض الكائنات الأخرى ، كالخمائر والفطريات والبروتوزوا .

الأجناس البكتيرية المكونة لجراثيم داخلية

توجد الجراثيم الداخلية فى أجناس بكتيرية محددة ، تمتاز كلها بأنها عصوية (عدا جنس واحد كروى هو *Sporosarcina*) والبكتريا المتجرثمة داخلياً ، موجبة لصبغة جرام ، وأغلبها متحرك بأسواط محيطيه .

منها أجناس هوائية أو اختيارية للهواء ، هى

Bacillus, Sporolactobacillus, Sporosarcina, Sporovibrio and *Thermoactinomyces*

ومنها أجناس لاهوائية ، هى :

Clostridium, Desulfotomaculum and [*] *Oscillospira*

وأغلب أنواع البكتريا المتجرثمة داخليا مترممة ، وتوجد بالتربة والمياه ، والبعض ممرض مثل *B. anthracis* ، والبعض الآخر مثل *Clostridium botulinum* مفرز للسموم .

وتحصل البكتريا اللاهوائية على طاقتها من التخمرات كما فى جنس *Oscillospira & Clostridium* [*] ، أو من التنفس اللاهوائى باستخدام الكبريتات كمستقبل للالكترونات مثل جنس *Desulfotomaculatum* .

وتحتوى البكتريا المتجرثمة عموما على نسبة منخفضة من قواعد الـ GC ، حيث تصل نسبة GC فى الكلوستريديوم إلى حوالى ٢٠-٢٧% ، وهى أقل نسبة قواعد نتروجينية توجد فى جميع أنواع بدائيات النواة .

مميزات الجرثومة الداخلية

الجرثومة البكتيرية الداخلية عبارة عن جسم كثيف يتكون داخل الخلية الخضرية ، فى الأنواع البكتيرية المتجرثمة ، والجرثومة ذات سطح ناعم Smooth أو مخطط Streaked أو مضلع Ribbed (حسب النوع) . وتصل نسبة الرطوبة بالجرثومة لحوالى ١٥% ، وتمثل الجرثومة حوالى عشر حجم الخلية الخضرية التى نشأت منها ، وعلى الرغم من ذلك ، فإن الجرثومة تحتوى على معظم المحتويات الصلبة للخلية الخضرية ، وكذلك جميع الانزيمات والرايبوسومات الضرورية ، وجميع الوحدات الوراثية اللازمة لاستمرار النوع .

وتظهر الجرثومة تحت المجهر الضوئى كجسم لامع ، إذ أن معامل إنكسار الأشعة الضوئية بواسطة بروتين الجرثومة الجاف ، أعلى بكثير من معامل إنكسار الأشعة ببروتين الخلية الخضرية الرطب ، كما أن الجرثومة غير قابلة للصبغ بالصبغات العادية ، لعدم قدرة

---

[*] بكتريا *Oscillospira* ، بكتريا كبيرة الحجم ، عصوية منحنية ، فى سلاسل ، وتتواجد فى كرش المجترات .

الصبغة على النفاذ من جدار الجرثومة السميك ، ويلزم لصبغ الجراثيم البكتيرية استخدام صبغات قوية وحرارة أثناء الصبغ ، لتسهيل دخول الصبغة إلى داخل الجرثومة .

مقاومة الجرثومة الداخلية للظروف السيئة

تتميز الجرثومة الداخلية بشدة مقاومتها للظروف البيئية السيئة ، كالحرارة العالية والبرودة والجفاف والكيميائيات والضغوط الأسموزية ... الخ ، وذلك مقارنة بالخلايا الخضرية التى نتجت منها ، أو مقارنة بأنواع الجراثيم البكتيرية الأخرى ، مثل الحويصلات والجراثيم اللزجة والجراثيم الخارجية وجراثيم الأكتينومايسيتات ، فقدرة الجراثيم البكتيرية الداخلية على مقاومة الظروف السيئة ، لاتماثلها فيها أى نوع آخر من الأحياء .

والأمثلة التالية ، توضح مدى قدرة الجراثيم الداخلية البكتيرية ، على مقاومة الظروف السيئة

١ - تستطيع الجراثيم أن تحتفظ بحيويتها لفترات طويلة وهى فى حالة جفاف ، مثل بكتريا حمى الانثراكس ، التى تستطيع تَحَمُّل الوسط الجاف لعشر سنوات .

٢- تستطيع الجراثيم أن تتحمل الغليان لفترات طويلة دون أن تموت ، مثل جراثيم البوتيوليتم التى تستطيع تحمُّل الغليان لعدة ساعات ، أو تحمُّل التعقيم على درجة ١٢٠°م لعدة دقائق ، فى الوقت الذى تهلك فيه الخلايا الخضرية عند تعرضها لدرجة ٨٠°م لعدة دقائق .

ويستفاد من خاصية تحمل الجراثيم للحرارة ، عند الرغبة فى عزل الجراثيم من الوسط الموجوده به ، ثم تنميتها .

وبسبب مقاومة جراثيم البكتريا الداخلية للحرارة العالية ، فإن الغليان لايكفى للتخلص منها ، بل يلزم للقضاء عليها اللجوء إلى التعقيم بواسطة الأوتوكلاف ، أو التعقيم بمعقم الهواء الساخن على درجة حرارة عالية ولفترة زمنية طويلة .

٣- تستطيع الجراثيم مقاومة الإشعاع عن الخلايا الخضرية التى نتجت عنها ، وتَحَمُّل أضعاف الجرعات الاشعاعية التى لاتتحملها الخلايا الخضرية .

وقد وضعت تفسيرات عديدة لتفسير القدرة العالية للجراثيم البكتيرية الداخلية على مقاومة الظروف السيئة . من هذه التفسيرات

* سمك جدار الجرثومة البكتيرية غير المنفذ للمواد الضارة كالكيميائيات والسموم وغيرها ، الى داخل السيتوبلازم ، مما يحفظ الخلية من تأثير هذه المواد السامة .

* إحتواء بروتين الجرثومة على كمية قليلة من الرطوبة (حوالى ١٥%) ، مقارنة ببروتين الخلايا الخضرية (حوالى ٨٠%) .

إذ تقترب رطوبة بروتين الجرثومة من رطوبة البروتين الجاف Dehydrated protein ، ويتميز البروتين الجاف بأنه أكثر مقاومة لتأثير الحرارة بكثير عن البروتين الرطب .

- إحتواء الجرثومة البكتيرية الداخلية على حامض الدبيكولينيك * ، Dipicolinic acid (DPA) ؛ (Pyridine-2,6-Dicarboxylic acid) بكميات كبيرة ، تصل الى ١٥% من وزن الجرثومة الجاف ، وغالباً مايوجد هذا الحامض فى منطقة لب الجرثومة Spore core ، ويساعد وجود هذا الحامض على عملية تجفيف الجرثومة أثناء تخليقها داخل الخلية الخضرية.

ويكون حامض DPA مع الكالسيوم ، مركب Ca Dipicolinate ، ويلعب هذا المركب ، بالإضافة إلى جفاف الجرثومة ، دوراً رئيسيا فى مقاومة الجرثومة البكتيرية للحرارة العالية ، ويتم تخليق هذا الحامض فى المراحل المتقدمة من عملية التجرثم .

- ومما يساعد أيضا على مقاومة الجرثومة للحرارة ، وجود إنزيمات الجراثيم فى حالة ثبات Stabilized ، فى تراكيب الجرثومة ، وتقع الانزيمات التى فى حالة الثبات عادة فى جدار الجرثومة ، وذلك كما لوحظ فى حالة إنزيم Alanine racemase فى بكتريا *B. cereus* . ويعود الثبات الحرارى لبعض الانزيمات الجرثومية ، لإرتباطها بأيون الكالسيوم .

- إحتواء أغلفة الجرثومة Spore coats ، على نسبة مرتفعة من البروتينات المحتوية على الحامض الأمينى الكبريتى السستئين Cysteine ، ذو الروابط الكبريتيدية Disulfide bridges وترتبط مقاومة الجراثيم للإشعاع بعدد الروابط الكبريتيدية الموجودة بالأغلفة البروتينية للجرثومة .

شكل وحجم الجرثومة الداخلية وموضعها بالخلية المتجرثمة

Shape, size and location of endospores

تسمى الخلية الخضرية الحاملة للجرثومة الداخلية ، باسم الحافظة الجرثومية أو الاسبورانجيوم Sporangium . ويعتبر شكل الجرثومة ، وحجمها ، وموضعها بالاسبورانجيوم صفات تقسيمية ثابتة وممّيزة للنوع البكتيرى الواحد .

قد يكون شكل الجرثومة كروى Spherical ، أو بيضى Ellipsoidal ، أو اسطوانى Cylindrical ، وقد تقع الجرثومة بوسط الخلية المتجرثمة ، وتسمى جرثومة وسطية Central spore ، كما فى بكتريا *B. subtilis* ، أو بقرب طرف الخلية ، وتسمى جرثومة قرب طرفية أو تحت طرفية Subterminal ، كمافى بكتريا *Clostridium. fallax & Cl. subterminale* ، أو تقع الجرثومة بطرف الخلية ، وتسمى جرثومة طرفية Terminal ، كما فى بكتريا *Cl. sporogenes* .

ومن حيث حجم الجرثومة ، فعادة مايكون قطر الجرثومة مساو أو أقل من قطر الاسبورانجيوم ، ولكن فى بعض الأنواع البكتيرية ، قد يزيد قطر الجرثومة عن قطر الاسبورانجيوم ، مما يسبب انتفاخا Swelling بالاسبورانجيوم ، وفى هذه الحالة فان الحافظة الجرثومية تأخذ الأشكال التالية [شكل ٥ (٤) - ١] .

* أنظر تركيب حامض الديكولينيك بشكل [٥ (٤) - ٢] ، ص ٢٨٠ .

* الشكل القاربى **Boat-like shape**

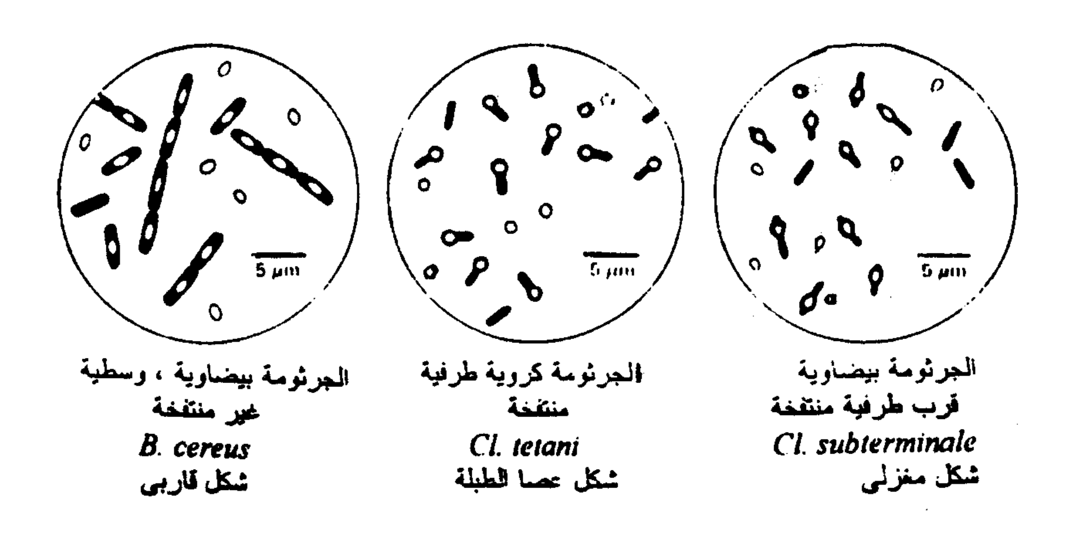
وذلك عندما يكون الانتفاخ بوسط الخلية ، كما فى بكتريا *B. polymyxa & B. cereus* .

* الشكل المغزلى **Spindle shape**

وذلك عندما يكون الانتفاخ قرب طرف الخليـــة ، كمـــا فـــى بكتريـــا *Cl. botulinum* & *Cl. subterminale* .

* شكل عصا الطبلة **Drum-stick shape**

وذلك عندما يكون الانتفاخ بطرف الخلية ، كما فى بكتريا *Cl. tetani* .



الجرثومة بيضاوية ، وسطية غير منتفخة *B. cereus* شكل قاربى — الجرثومة كروية طرفية منتفخة *Cl. tetani* شكل عصا الطبلة — الجرثومة بيضاوية قرب طرفية منتفخة *Cl. subterminale* شكل مغزلى

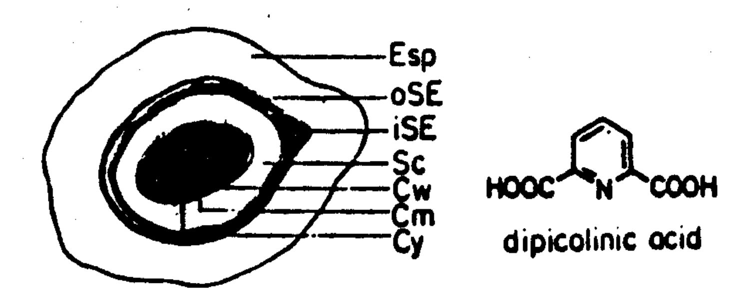
شكل ٥ (٤) - ١ : أشكال تخطيطية توضح شكل وحجم وموضع الجرثومة الداخلية ، بخلايـــا أنـــواع مختلفة من البكتريا .

تركيب الجرثومة الداخلية : Structure of endospore

تختلف الجرثومة الداخلية فى تركيبها ، عن تركيب الخلية الخضرية التى نتجت منـــها ، وبالفحص بالمجهر الالكترونى ، تظهر الجرثومة محاطة بعدة أغلفة ، وعموما ، فإن الجرثومـــة البكتيرية تتركب من الطبقات التالية بدءا من خارج الجرثومة الى داخلها [شكل ٥ (٤) - ٢] .

١- ظهارة الجرثومة ، الاكسوسبوريام : Exosporium

هى الطبقة الخارجية من الجرثومة ، وهـــى تحيـــط بأغلفـــة الجرثومـــة البكتيريـــة ، والاكسوسبوريام طبقة رقيقة غير محددة السمك إذ يتوقف سمكها على ظروف البيئة ، وتتكـــون أساسا من سكريات معقدة ، وتشاهد بوضوح فى بعـــض الأنـــواع البكتيريـــة ، مثـــل بكتريـــا *B. cereus, B. megaterium & B. polymyxa* ، وتساعد طبقة الاكسوسبوريام فـــى حمايـــة الجرثومة من الظروف السيئة .



شكل ٥ (٤) - ٢ : تركيب الجرثومة الناضجة

Esp : Exosporium ، ظهارة الجرثومة
oSE : outer Spore envelopes ، الأغلفة الخارجية للجرثومة
iSE : inner Spore envelopes ، الأغلفة الداخلية للجرثومة
Sc : Spore cortex قشرة الجرثومة
Cw : الجدار الخلوى
Cm : الغشاء السيتوبلازمى ⎫ لب الجرثومة Spore core ، البروتوبلاست
Cy : السيتوبلازم ⎭

أنظر: تركيب حامض دبيكولينيك ، على يمين الشكل

٢- أغلفة الجرثومة : Spore coats

الأغلفة الجرثومية تلى منطقة الاكسوسبوريام ، وهى تحيط بالقشرة Cortex ، وتتكون الأغلفة من طبقة واحدة أو اكثر قد تصل فى بعض الأنواع إلى أربعة (مثلاً يوجد غلاف واحد فى جرثومة *B. cereus* ، ويوجد غلافين فى *B. megaterium*) .

وتتركب أغلفة الجرثومة أساسا من البروتينات ، وتمثل هذه البروتينات حوالى ٣٠-٦٠% من وزن الجرثومة الجاف ، ويحتوى بروتين الأغلفة على نسبة مرتفعة من الحامض الأمينى الكبريتى السستئين Cysteine ، مع أحماض أمينية أخرى كارهة للماء وقليل من الليبيدات والببتيدوجلوكان .

وتساعد الأغلفة فى حماية الجرثومة من الجفاف والكيميائيات الضارة والاشعاع

٣ - القشرة : Cortex

تقع القشرة بين أغلفة الجرثومة وجدار الجرثومة ، وتتكون القشرة من طبقات متعـــددة من الببتيدوجلوكان ، وهو يختلف فى تركيبه عن تركيب ببتيدوجلوكان الجدار ، من حيث محتواه من الأحماض الأمينية ، ونظام إرتباط السلاسل مع بعضها .

تعطى القشرة الصلابة للجرثومة البكتيرية ، كما تحميـــها مـــن التـــأثيرات الضـــارة للكيميائيات والمواد السامة ، وتعيق دخول الصبغات إلى داخل الجرثومة .

وتركيب القشرة ، تركيب مميز للجرثومة البكتيرية ، حيث يظهر هذا الـــتركيب فـــى الجرثومة فقط ، ولايتواجد فى الخلية الخضرية .

٤- جدار الجرثومة : Cell wall

جدار الجرثومة يفصل القشرة عن بروتوبلاست الجرثومة ، وهو يشـــبه فـــى تركيبـــه الجدار الخلوى للخلية الخضرية ، وإن كان الببتيدوجلوكان المكون لجـــدار الجرثومـــة ، أكـــثر مقاومة للتحلل عن ذلك الموجود بجدار الخلية الخضرية ، أو الموجود بأغلفة الجرثومة .
ويحمى جدار الجرثومة ، لب الجرثومة Core من التأثيرات الخارجية الضارة .

٥ - بروتوبلاست الجرثومة (لب الجرثومة)

البروتوبلاست يلى جدار الجرثومة ، ويمثل البروتوبلاست لب الجرثومة Spore core، أى الجزء المركزى فيها ، وهو يشمل كلا من الغشاء السيتوبلازمى والسيتوبلازم بكل مشـتملاته البروتينية ومكوناته الخلوية ، وما به من مادة نووية .

ويتميز سيتوبلازم الجرثومة ، بإنخفاض محتواه من الماء مقارنة بسيتوبلازم الخلية الخضريـــة ، وبإحتوائه على نسبة مرتفعة من الكالسيوم وحامض دبيكولينيك .

ويوضح الجدول التالى [٥ (٤) - ١] ، أهم الفروق الموجودة بين الجرثومة الداخليـــة والخلية الخضرية التى نتجت منها .

تكون الجراثيم الداخلية : Spore formation

يعتبر التجرثم الداخلى فى البكتريا المتجرثمة ، طورا من أطوار نمو البكتريـــا ، إذ أن الجرثومة البكتيرية تتكون من المحتويات الداخلية للخلية الأم ، والظروف البيئية التى تؤدى الـــى تطور نمو البكتريا ، هى نفس الظروف التى تؤدى الى تكون الجراثيم الداخلية ، بمعنى أن طور التجرثم يبدأ ، بعد أن تكون الخلايا البكتيرية قد مرت أولا بطور النمو والتكاثر ، ووصلت إلـــى طور النضج ، ودخلت طور الثبات ، وعادة مايكون بداية التجرثم فى بداية طور الثبات . وفـــى طور الثبات يطول عمر الجيل ، وتأخذ المواد الغذائية الموجودة بالبيئـــة ، خصوصـــا مصـــدر الكربون ، فى التناقص ، وتتراكم فضلات الأيض الغذائى بالمزرعة ، مما يشجع علـــى دخـــول البكتريا مرحلة التجرثم .

جدول ٥ (٤) - ١ : أهم الفروق بين مكونات الجرثومة الداخلية ، ومكونات الخلية الخضرية التى نتجت منها الجرثومة .

الخاصية	الجرثومة الداخلية	الخلية الخضرية
نسبة الرطوبة	منخفضة ، حوالى ١٥% من وزن الجرثومة الجاف . وتوجد الرطوبة فى صورة مرتبطة	مرتفعة ، حوالى ٨٠%
القشرة Cortex	يوجد	لايوجد
حامض دبيكولينيك	يوجد	لايوجد
الكالسيوم	يوجد بتركيز عالي	يوجد بتركيز منخفض نسبيا
النشاط الانزيمي	فى حالة سكون	فى حالة نشطة
مقاومة الظروف السيئة ، (الحرارة والجفاف والمطهرات والاشعاع ... الخ)	عالية	منخفضة

ويمكن تشجيع عملية التجرثم معمليا بطريقتين

١- تنمية البكتريا فى بيئة بها مستوى محدود من عنصر غذائى معين ، كالكربون أو النتروجين ، وباستهلاك البكتريا لهذا العنصر الغذائى المحدود ، فإن نموها يتوقف ، وتدخل الخلايا فى مرحلة التجرثم .

٢- تنمية البكتريا فى بيئة عادية ، وبعد وصول الخلايا الى مرحلة النمو اللوغاريتمى ، تنقل خلايا المزرعة إلى بيئة فقيرة غذائيا ، فيقف النمو الخضرى ، وتبدأ الخلايا البكتيرية فى التجرثم .

وتتميز الطريقة الثانية ، بأن الخلايا تبدأ التجرثم ، وتتجرثم ، بطريقة متزامنة Synchronously .

ومن العوامل التى تساعد على التجرثم ، إضافة أملاح بعض المعادن الى البيئة مثل أملاح المنجنيز والكروم والنيكل ، والنترات والأمونيوم ، وكذلك رج المزرعة الخضرية مع ماء مقطر على درجة ٣٧°م ، وأيضا التحضين على درجة حرارة غير مناسبة .

وعلى العكس من ذلك ، فإن وجود بعض المواد بالبيئة مثل الأحماض الدهنية المشبعة ذات السلاسل التى تحتوى على ١٠ الى ١٤ ذرة كربون ، تثبط عملية التجرثم خاصة فى جنس باسلس .

جينات التجرثم

يتحكم الجينوم البكتيرى كما هو معروف ، فى النمو الخضرى وفى عملية التجرثم ، وأثناء النمو الخضرى تكون جينات التجرثم فى حالة تثبيط ، بسبب حدوث كبح هدمى Catabolic repression* من نواتج هدم جلوكوز ونتروجين البيئة ، وباختفاء نواتج هدم هذه المواد بتقدم عمر المزرعة ، يقف كبح جينات التجرثم ، فتنشط وتبدأ فى عملها .

كما يسبب كبح جينات التجرثم أيضا ، إتحاد جلوكوز البيئة بمادة 3`, 5`-cyclic guanosine- 5` - monophosphate, cGMP ، اللازمة كبادىء لتشجيع عملية التجرثم ، وباختفاء الجلوكوز من البيئة بتقدم عمر المزرعة ، تنفرد مادة cGMP ، فتنشط كبادىء ، وتُنشّط عملية التجرثم .

عدد الجينات الذى يتحكم فى عملية التجرثم حوالى ٥٠ جين ، توجد موزعة على الكروموسوم البكتيرى ، وهى كما ذكر سابقا ، تكون خاملة أثناء نمو الخلية الخضرى ، وبزوال أسباب تثبيط جينات التجرثم ، فإن ذلك ينشط جينا معينا بمجموعة جينات التجرثم ، وعندما ينشط هذا الجين فانه يُنشّط بالتتابع باقى جينات التجرثم ، فتدخل الخلية الخضرية ، مراحل تجرثمها ، التى تنتهى بتكون الجرثومة الحرة .

الخلايا الخضرية التى بدأت مرحلة التجرثم ، ووصلت الى المرحلة الثانية من مراحل تكوين الجرثومة (حوالى ساعتين من بدء التجرثم) ، يمكن أن تعود لحالتها الخضرية ، بإضافة جلوكوز ، وبإزالة مثبطات النمو الخضرى . أما الخلايا الخضرية التى وصلت إلى مراحل فى التجرثم ، بعد المرحلة الثانية ، فانه لايمكن أن تعود لحالتها الخضرية الأولى ، بل تستمر فى استكمال مراحل تجرثمها .

مراحل تكوين الجراثيم : Spore formation, Sporogenesis

تأخذ الجرثومة البكتيرية عادة فترة تتراوح من ٧ إلى ٨ ساعات من بداية التجرثم ، حتى تمام تكون الجرثومة الناضجة ، وخلال هذه الفترة ، تمر الجرثومة البكتيرية بسبعة مراحل من التغيرات التركيبية حتى تنضج فى النهاية ، وتنفرد الجرثومة الحرة المقاومة للظروف السيئة [شكل ٥ (٤) – ٣] ، وهذه المراحل هى

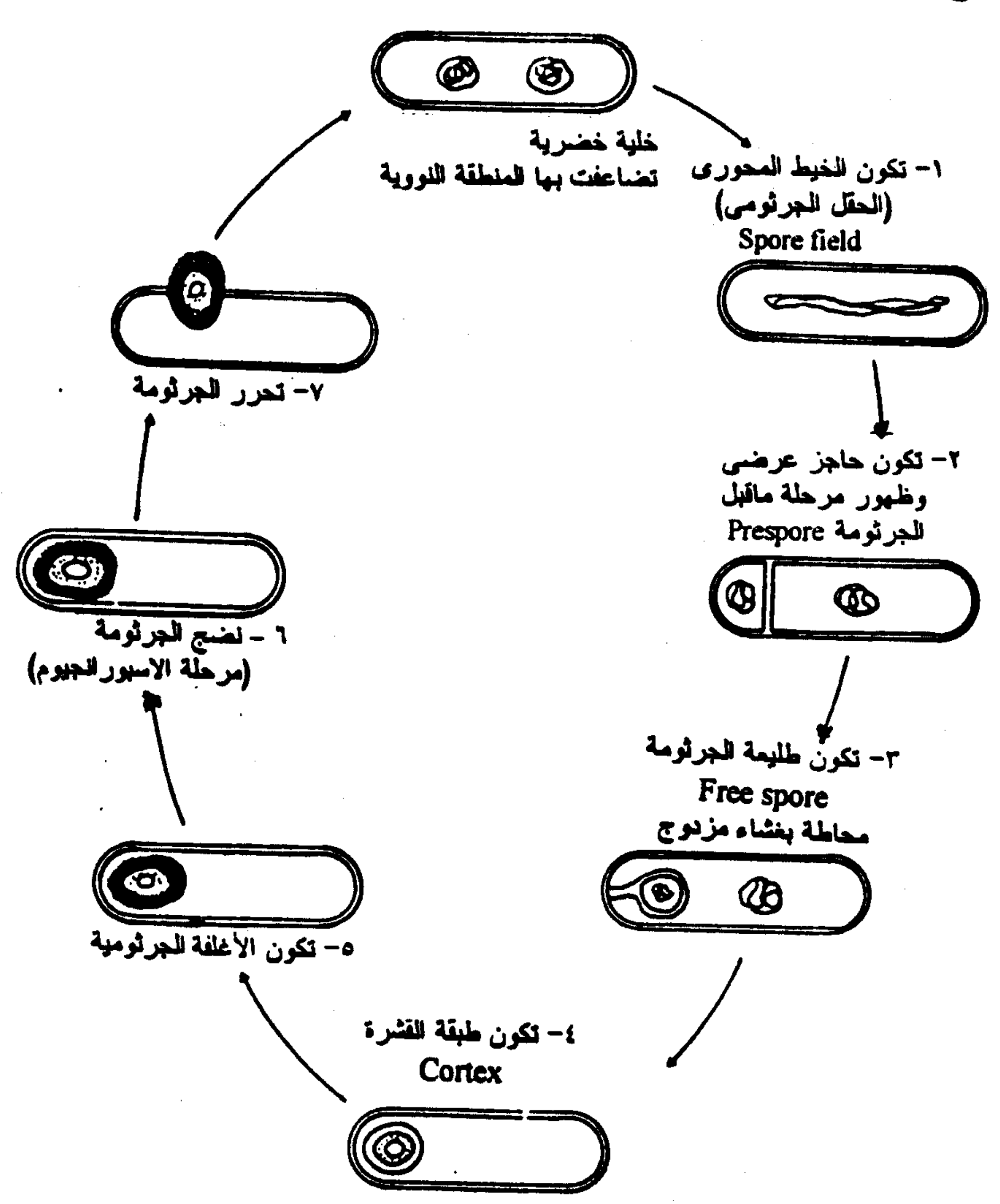
---

* كبح بواسطة نواتج الهدم Catabolic repression :

تنظيم لتخليق الانزيمات التى تقوم بهدم مادة ما ، وذلك بواسطة الكبح بنواتج هدم نفس المادة الموجودة بالبيئة .

١ - المرحلة الأولى :

تبدأ المرحلة الأولى من عملية التجرثم بعد دخول المزرعة البكتيرية طـــور الثبـــات ، وذلك بحدوث تغير فى دنا الخلية البكتيرية ، نتيجة اندماج كروموسومى الخلية فى تجمع واحـــد يسمى بالخيط المحورى Axial filament ، وتظهر هذه المنطقة ككتلة سميكة من البروتوبلازم ، وتسمى بمنطقة الحقل الجرثومى Primordium, Spore field .



شكل ٥ (٤) - ٣ : مراحل تكوين الجرثومة الداخلية .

ويحدث التعدد الكروموسومى الذى يلاحظ بالخلية الخضرية ، أثناء مرحلة انقسامها السريع فى الطور اللوغاريتمى ، حيث يتكون بالخلية كروموسومين أو أكثر ، نتيجة لأن إنقسام الكروموسومات يتم بمعدل أسرع من انقسام الخلية . وبإندماج هذه الكروموسومات فى بداية عملية التجرثم ، يتكون الخيط المحورى .

٢- المرحلة الثانية

يتضاعف الدنا الى كروموسومين ، ويتكون حاجز عرضى Septum قرب أحد طرفى الخلية ، ليفصل الخلية الى جزئين غير متساويين ، بكل جزء منها مادتها النووية .

يزداد تكثف الجزء الصغير من الخلية ، لتكوين مرحلة ماقبل الجرثومة Prespore ، ويستغرق تكون هذه المرحلة حوالى ساعة .

وفى هذه المرحلة ، يلعب الميسوسوم دورا هاما فى تكوين الحاجز العرضى ، وفى تضاعف دنا الخلية الأم .

٣ - المرحلة الثالثة

يمتد الغشاء السيتوبلازمى لخلية الأم ، ويحيط بطور ماقبل الجرثومة ، وبذلك تتكون طليعة الجرثومة Forespore ، التى تظهر محاطة بغشاء مزدوج ، الغشاء الداخلى يحيط بالجرثومة ، والغشاء الخارجى يلتف حولها ويمتد ليتصل بغشاء خلية الأم [شكل ٥ (٤) - ٣] . ويلعب هذين الغشائين دورا فى تكوين جدار الجرثومة .

٤- المرحلة الرابعة

يحدث فى هذه المرحلة تكوين وترسيب مكونات هامة للجرثومة ، فيخلق الغشاء البلازمى الداخلى المحيط بالجرثومة ، ويخلق جدار الجرثومة ، ويتخلق خارجه طبقة القشرة Cortex .

٥ - المرحلة الخامسة

يتم فى هذه المرحلة تكوين أغلفة الجرثومة Spore coats ، وهذه الأغلفة تكونها الخلية الأم ، ويلى ذلك إختفاء الغشاء البلازمى الخارجى للجرثومة .

٦- المرحلة السادسة

يتم فى هذه المرحلة اكتمال مكونات الجرثومة الداخلية ونضجها ، وتأخذ مكانها المحدد بداخل الحافظة الجرثومية (مرحلة الاسبورانجيوم Sporangium) .

٧ - المرحلة السابعة

فى هذه المرحلة ، تتحلل الاسبورانجيوم ، وتتحرر الجرثومة وتصبح حرة Free spore ، وفى وجود الظروف البيئية المناسبة ، فان الجرثومة تنبت وتكون خلية خضرية جديدة.

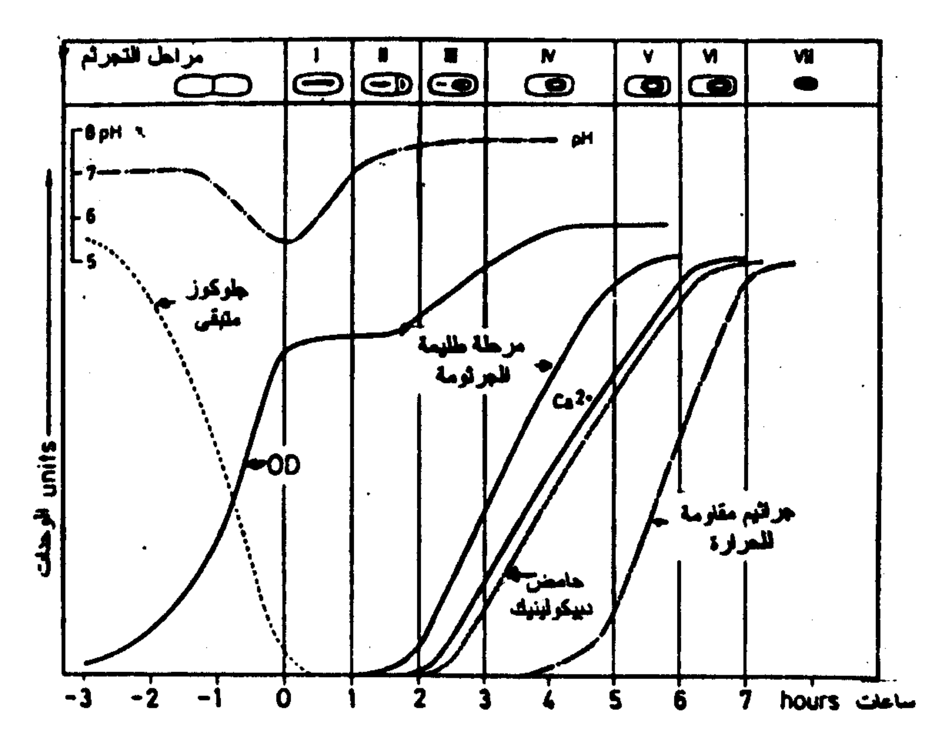
التغيرات المورفولوجية والفسيولوجية التى تحدث أثناء عملية التجرثم

يوضح الشكل [٥ (٤) - ٤] التغيرات التى تحدث خلال المراحل السبعة ، لعملية تكوين الجراثيم الداخلية البكتيرية ، مع ملاحظة أنه

- تبدأ عملية التجرثم بعد نضج الخلية الخضرية البكتيرية ، ونفاذ الجلوكوز من البيئة ، وتجمع المواد البروتينية بالخلية ، وتوفر مصادر الطاقة بها (بولى بيتا هيدروكسى بيوتيرات فى حالة البكتريا الهوائية ، والسكريات فى حالة البكتريا اللاهوائية) .

  ويعتبر نفاذ الجلوكوز من البيئة ، هو نقطة البداية لعملية التجرثم .

- بتقدم مراحل التجرثم ، يزداد محتوى الخلية المتحولة الى جرثومة من الكالسيوم وحامض DPA ، وكذلك يزداد معامل إنكسارها للضوء ، ومقاومتها للحرارة .
- تحرر الجرثومة الناضجة فى المرحلة السابعة من مراحل التجرثم .



شكل ٥ (٤) - ٤ : التغيرات المورفولوجية والفسيولوجية التى تحدث أثناء مراحل تكون الجرثومة الداخلية البكتيرية .
- مراحل التجرثم السبعة موضحة بأعلى الشكل

لاحظ

- نفاذ الجلوكوز من البيئة قبل بدء التجرثم
- تراكم الكالسيوم وحامض DPA مع تقدم مراحل التجرثم
- تحرر الجرثومة الناضجة المقاومة للحرارة المرتفعة فى المرحلة السابعة من التجرثم

وبالنسبة للتغيرات الانزيمية التى تحدث خلال مراحل التجرثم ، فإننا نلاحظ

- فى المرحلة الثانية من مراحل التجرثم ، تكون كل الانزيمات المرتبطة بدورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل نشطة ، وذلك لحاجة عملية التجرثم الى توفر كميات كبيرة من مصادر الطاقة ممثلة فى ATP .
- بعض إنزيمات البروتييز الخارجية Extracellular proteases ، تكون قليلة النشاط أو غير موجودة فى الخلايا الخضرية ، بينما تتواجد وتنشط أثناء التجرثم ، ومن أهم هذه الانزيمات Alkaline serine protease & Neutral metaloprotease

ومن الانزيمات التى توجد فقط فى الجراثيم

Dipicolinic acid synthetase	Aceto acetyl-CoA reductase
Extracellular proteases	DAP adding enzymes
Glucose dehydrogenase	Dihydrodipicolinic synthetase

وبالنسبة للمركبات الجديدة المتكونة أثناء مرحلة التجرثم ، نلاحظ

- فى خلال الخمس ساعات الأولى من بداية مراحل التجرثم ، يتحلل الكثير من بروتينات الخلية الخضرية الأم ، وتتخلق المواد الخاصة بالجرثومة الجارى تكونها .
- انتاج الخلايا أثناء مرحلة التجرثم لعدد من المضادات الحيوية التى لم تكن تنتجها الخلية الخضرية الأم ، وقد اتضح ذلك من أن الطفرات غير القادرة على تكوين الجراثيم الداخلية ، لاتكون تلك المضادات الخاصة بالتجرثم .

ويعتقد أن هذه المضادات المنتجة أثناء عملية التجرثم ، تلعب دورا فى عملية التجرثم ، بتثبيطها جينات النمو الخضرى .

- فى المرحلة الثانية من مراحل التجرثم ، تتخلق فى الغشاء البلازمى للخلية الأم ، بروتينات أغلفة الجرثومة Spore coats ، وهى بروتينات غنية بالروابط الكبريتيدية لاحتوائها على نسبة مرتفعة من الحامض الأمينى السستئين Cysteine ، وهى بروتينات مشابهة للكيراتين . وتلعب هذه البروتينات دورا فى تقليل نفاذية الجرثومة للمواد ، وفى زيادة مقاومة الجرثومة للأشعة المؤينة .
- تكوين مركبات جديدة خاصة بالجرثومة ، لم تكن أصلا موجودة بالخلية الخضرية ، مثل

أ – مكونات جدار وأغلفة الجرثومة ، ذات التركيب الخاص من الببتيدوجلوكان .

ب – تراكم أيون الكالسيوم منذ بداية مراحل التجرثم .

ج – تخليق وتراكم حامض DPA فى مراحل التجرثم من المرحلة الرابعة الى السادسة ، ويمثل حامض DPA حوالى ١٥% من وزن الجرثومة الجاف ، ويوجد مرتبطا بالكالسيوم مكونا Ca-dipicolinate .

ويوجد حامض DPA فى بروتوبلاست الجرثومة الداخلية ، ولايوجد بالخلية الخضرية .

ويتخلق حامض DPA من الحامض الأمينى الاسبارتيك والحامض الكيتونـــى البـيروفيك حسب المعادلة العامة

Aspartic + Pyruvic + Succinyl CoA ⟶ Diaminopimellic acid ..... ⟶ DPA

ويرتبط مركب Ca-dipicolinate بالمقاومة الحرارية العالية للجراثيم ، ويتوازى معـدل تكون صفة المقاومة الحرارية بالجراثيم الداخلية ، مع معدل تراكم DPA بالجرثومة .

د - تخليق الأنتجينات الخاصة بالجرثومة .

هـ - تخليق بلورات البروتين المجاورة للجرثومة Parasporal protein crystals ببكتريـا *B. thuringiensis* ، أثناء طور الاسبورانجيوم .

إنبات الجرثومة الداخلية : Endospore germination

تظل الجرثومة البكتيرية الداخلية ساكنة ، بعد تحررها مـن الاسـبورانجيوم ، إذا لـم يتوفر لها الظروف الملائمة للنمو ، وقد تبقى كذلك لفترات طويلة . ولكـن بتحسـن الظـروف البيئية ، فإن الجرثومة تمتص الماء ، وتنتفخ ، وتبدأ فى الانبات فى خلال ٣٠ الى ٦٠ دقيقـة ، ثم تتكون الخلية الخضرية الجديدة . ومما لاشك فيه ، فإن الظروف الملائمة لانبات الجراثيـم ، هى نفسها الظروف الملائمة للنمو الخضرى .

تتم عملية الإنبات ، وهى تحول الجرثومة البكتيرية إلى خلية خضرية تامـة النضـج قادرة على الانقسام الثنائى ، فى وقت أسرع نسبيا (حوالى ٣-٤ ساعات) ، من عملية التجرثـم التى تستغرق حوالى ٧-٨ ساعات . وتتضمن عملية الانبات ، مرحلتين أساسيتين ، هما مرحلـة كسر طور السكون Cessation of dormancy (وقد تعرف بمرحلـة التنشـيط Activation) ، ومرحلة النمو أو الإنماء Outgrowth .

كسر طور السكون

ويمكن كسر طور سكون الجرثومة معمليا وتنشيطها ، بعدة عوامل منها

١ - استخدام طريقة الصدمة الحرارية Heat shock treatment

وذلك بتعريض الجراثيم لدرجة حرارة أقل من الدرجـة القاتلـة ، أى لدرجـة ٦٠ أو ٧٠°م لعدة دقائق ، (تعرض جراثيم الكلوستريديا لدرجة حرارة ٩٠°م لمدة ٢ دقيقة) ، وذلك قبل وضع الجرثومة مباشرة فى بيئة الانبات .

وتؤدى الصدمة الحرارية الى تشقق جدار الجرثومة ، وزيادة نفاذية جدرهـا ، وزيـادة معـدل أيضها ، كما أنها تنشط بعض الانزيمات ، مثل الانزيمات الناقلة للأمينات Transaminases .

٢- إضافة بعض الكيميائيات إلى بيئة الانبات ، مثل الجلوكوز ، الانين يســارى ، أدينوزيـن ، بعض الأملاح ، بعض الفيتامينات .

٣- توفير غاز CO_2 فى بيئة النمو ، الخاصة بإنبات جراثيم الكلوستريديوم .

وعلى العكس مما سبق ، فإنه يمكن إبطاء عملية انبات الجراثيم ، بإضافة بعض المواد لبيئة النمو ، مثل الانين يمينى ، أحماض دهنية مثل الأوليك Oleic ، واللينوليك Linoleic .

مرحلة النمو : Outgrowth

بعد تنشيط الجرثومة فإنها تدخل فى مرحلة النمو ، وفى هذه المرحلة ، تتحول الجرثومة الى خلية خضرية تامة النضج ، قادرة على الانقسام الثنائى ، وتتم مرحلة النمو على مراحل

ففى بدء عملية النمو ، تمتص الجرثومة الماء وتنتفخ ، ويتحول الحامض الأمينى D-alanine الموجود بالجرثومة إلى L-alanine ، بواسطة إنزيم Alanine racemase ، فتنشط الجرثومة ، وتبدأ فى الانبات .

ونتيجة لانتفاخ الجرثومة ولنشاطها ، تتمزق جدر الجرثومة أو تتحلل ، وتبرز الخلية الخضرية Emergence من أغلفة الجرثومة الى الخارج [شكل ٥ (٤) - ٥] ، وتستطيل الخلية النامية Elongate ، مكونة أنبوبة إنبات Germination tube ، تتحول الى خلية خضرية محاطة بجدار خلوى ، ثم تمر الخلية الخضرية بمرحلة النضج لاستكمال محتوياتها ، حتى تتهيأ لدخول مرحلة الانقسام الثنائى .

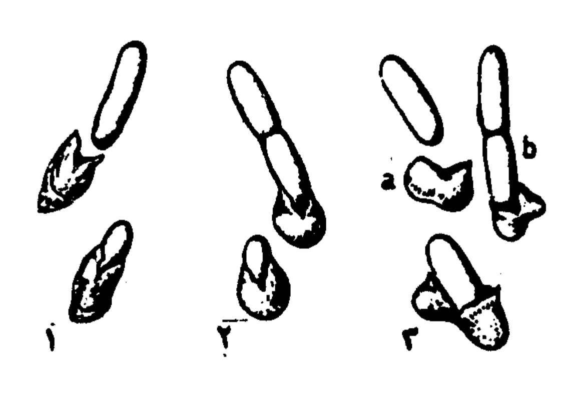
وتمتاز كل مرحلة من مراحل إنبات الجرثومة (الانتفاخ ، بروز الخلية الخضرية ، الاستطالة ، تكون أنبوبة انبات ، اكتمال نمو الخلية الخضرية ونضجها) باحتياجاتها الغذائية الخاصة .

تبرز الخلية الخضرية النامية من أغلفة وجدر الجرثومة بطريقتين

١ - بتحليل الجدر إنزيميا بواسطة إنزيم Ribosidase ، وذلك فى حالة الجراثيم كبيرة الحجم .

٢ - بثقب الجدار من طرفه أو وسطه أو من جانبه ، وخروج الجرثومة ، تاركة الجدار والأغلفة ، أو تبقى عالقة بها لفترة ، وذلك فى حالة الجراثيم صغيرة الحجم .

شكل ٥ (٤) - ٥ : بروز الجراثيم النامية :



١ - بروز الخلية الخضرية من طرف أغلفة الجرثومة ، (بكتريا كلوستريديوم) .
٢- بروز الخلية الخضرية من طرف أغلفة الجرثومة ، ومازالت أغلفة الجرثومة عالقة بها (بكتريا *B. megaterium*) .
٣- بروز الخلية الخضرية من جانب أغلفة الجرثومة
(a- *B. subtilis*, b- *B. cereus*)

التغيرات الفسيولوجية والكيميائية التى تحدث أثناء عملية الانبات

تمر الجرثومة الداخلية خلال مراحل إنباتها المختلفة ، بمجموعة من التغيرات الفسيولوجية ، حتى تتحول من جرثومة داخلية الى خلية خضرية ناضجة ، قابلة للأنقسام الثنائى .

من هذه التغيرات

* زيادة معدلات النفاذية .
* زيادة معدل التنفس والنشاط الأيضى .
* تخليق المواد اللازمة للخلية الخضرية النامية من رنا وبروتينات وانزيمات وجدار خلوى ... الخ .
* خروج الأحماض الأمينية والببتيدات ، وحامض DPA من الجرثومة النامية ، مما يسبب فقدها لحوالى ٢٥% من وزنها الجاف .
* فقد الجرثومة النامية للخواص المميزة للجرثومة ، مثل إنكسار الضوء ، مقاومة الصبغ ، مقاومة الحرارة المرتفعة .

ويمكن ملاحظة تطور إنبات الجرثومة ، بعد إنباتها ، بمتابعة قلة كثافتها ، وقلة قدرتها على كسر الضوء ، أى قلة لمعانها عند فحصها بالمجهر الضوئى ، وبزيادة قابليتها للصبغ القاعدى ، وقلة مقاومتها للحرارة ، وزيادة نشاطها ، وزيادة معدل أيضها الغذائى .

أنواع الجراثيم الأخرى التى تكونها البكتريا

١- الحويصلات : Cysts

الحويصلات تركيبات سميكة الجدار ، تتحول فيها الخلية الخضرية الأم بأكملها الى حويصلة ، كمرحلة سكون لمقاومة الظروف السيئة ، خاصة الجفاف والاشعاع ، وتعاود الحويصلات النمو والنشاط عند تحسن الظروف .

والحويصلات ليست فى مستوى مقاومة الجراثيم الداخلية للحرارة ، كما أنها تختلف عنها فى التركيب ، ومن أهم الأجناس البكتيرية المكونة لحويصلات ، جنس الأزوتوباكتر وجنس *Methylocystis* .

تحتاج مرحلة تحول الخلية الخضرية الى حويصلة ، الى حوالى ٣٦ ساعة ، ويشجع على تكوين الحويصلات ، الظروف التى تسبب قلة النمو ، مثل قلة السكريات بالوسط ، واستخدام الايثانول والبيوتانول كمصدر للكربون ، وخلو البيئة من النتروجين المرتبط ، وتوفر مادة البيتا بولى هيدروكسى بيوتيرات المخزنة بالخلايا ، لأن الخلايا تستخدم هذه المادة فى تكوين الحويصلات .

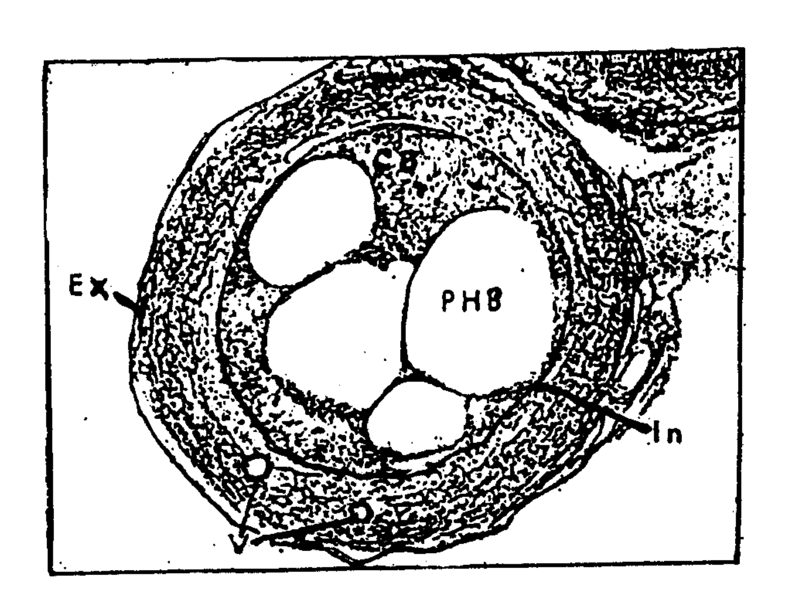
وتتميز عملية تحول الخلية الخضرية الى حويصلة ، بحدوث ثلاث تغيرات أساسية بالخلية ، هى

- فقد الأنواع المتحركة للحركة .
- تحول الخلية البكتيرية من الشكل البيضاوى أو العصوى ، الى الشكل شبه الكروى .
- تكون غلاف من عدة طبقات يحيط بالحويصلة المتكونة .

وتبدأ عملية التحول من خلية خضرية الى حويصلة ، بإنقسام الخلية الخضرية الأم إلى خليتين ، ويطلق على هذه المرحلة ، مرحلة ماقبل تكون الحويصلة Precyst stage ، وتحتوى كل خلية ناتجة على جزء من المادة الوراثية للخلية الأم ، ثم تتطور الخلايا من مرحلة ماقبل الحويصلة ، الى مرحلة الحويصلة ، باستكمال بنائها وتكوين أغلفتها .

تظهر الحويصلة التامة التكوين محاطة بجدار رقيق من الببتيدوجلوكان ، يغلفه من الخارج غطائين Two coats ، الداخلى منهما Intine ، يتكون من لبيدات وكربوهيدرات ، ويظهر شفاف تحت المجهر الإلكترونى .

والخارجى منهما Exine ، يتكون من ليبوبروتينات وليبوسكريات ، ويظهر متعدد الطبقات تحت المجهر الالكترونى [شكال ٥ (٤) - ٦] .



شكل ٥ (٤) -٦ : صورة بالمجهر الالكترونى لحويصلة *Azotobacter vinelandii*

Ex : Exine – الغطاء الخارجى
In : Intine – الغطاء الداخلى
CB : Central body – الجسم المركزى
PHB : Polyhydroxy butyrate granules – حبيبات بولى بيتا هيدروكسى بيوتيرات
V : Vesicle حويصلة وعائية

٢ – الجراثيم اللزجة : Myxospores

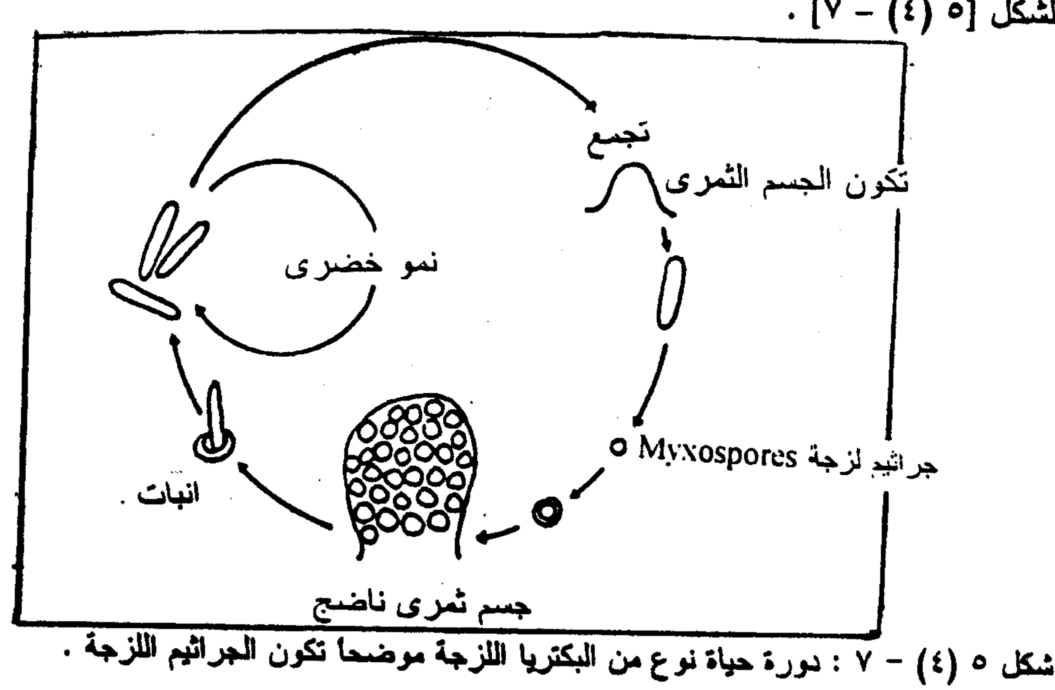
هى خلايا فى طور سكون ، مقاومة للظروف السيئة خاصة الجفاف والإشعاع ، تنتجها أنواع من البكتريا التابعة لرتبة المكسوبكتريا ، Myxobacteriales ، مثل جنس *Myxococcus*، وكذلك الفطريات اللزجة .

تتميز البكتريا التابعة لرتبة المكسوبكتريا ، بتكوين كميات كبيرة من المادة اللزجة ، تحيطاً بالخلايا الخضرية النامية ، وعندما تسوء الظروف البيئية ، تتحرك الخلايا حركة زاحفة ، وتتلاصق ، وتتجمع مع بعضها ، ربما بإنتحاء كيميائى Chemostatic ، ثم تكون الخلايا المتجرثمة ، جسما ثمريا Fruiting body .

فى الجسم الثمرى ، تتحول الخلايا الخضرية من الشكل الاسطوانى ، الى الشكل الكروى ، مكونه جراثيم ساكنه تعرف بالجراثيم اللزجة ، والجراثيم اللزجة أقصر وأسمك من الخلايا الخضرية التى نشأت منها ، وأكثر مقاومة للجفاف والاشعاع ولكن ليس للحرارة ، وتتميز الجراثيم اللزجة ، عن الجراثيم الداخلية والحويصلات ، بأن الجرثومة اللزجة تحتوى على ٣-٤ نسخ من الكروموسوم البكتيرى ، لأن الجرثومة تكونت من الخلية الخضرية مباشرة دون حدوث انقسامات بها .

الجرثومة اللزجة تكون محاطة بجدار خلوى سميك ، ويحيط به من الخارج علبة Capsule ، تكسب الجرثومة حالة اللزوجة ، ويؤدى نقص بعض الأحماض الأمينية بالوسط ، مثل Methionine, Phenylalanine & Tryptophan ، الى تشجيع عملية التجرثم .

وتأخذ الدورة الخلوية للبكتريا الزاحفة حوالى ٥٠ ساعة فى المتوسط ، ويوضحها الشكل [٥ (٤) – ٧] .



شكل ٥ (٤) – ٧ : دورة حياة نوع من البكتريا اللزجة موضحاً تكون الجراثيم اللزجة .

٣- الجراثيم الكونيدية والاسبورانجية : Conidiospores and Sprangiospores

تتكون هذه الجراثيم فى الأجناس البكتيرية التابعة لرتبة الأكتينومايسيتات ، إذ تنمو هذه البكتريا فى خيوط (هيفات) ، وتتكون الجراثيم بأطراف أو بجوانب الهيفات الهوائية ، وتستطيع هذه الجراثيم مقاومة الجفاف لفترات طويلة ، ولكنها ليست عالية المقاومة للحرارة مثل الجراثيم الداخلية .

وبجانب ذلك ، فان الجراثيم الاسبورانجية والكونيدية تمثل وسيلة لتكاثر وانتشار الأنواع البكتيرية التى تنتمى اليها ، لأن الخلية البكتيرية تنتجها بأعداد كبيرة ، وكل جرثومة ناتجة ، قادرة على تكوين كائن جديد ، وهذا بخلاف الجراثيم البكتيرية الداخلية التى تعمل على حفظ النوع فقط .

أ - الجراثيم الكونيدية

من أجناس الاكتينومايسيتات المكونة للجراثيم الكونيدية ، جنس *Streptomyces* . وتتكون الجراثيم الكونيدية بالتبرعم من طرف الهيفا الهوائية ، مع تكون حاجز عرضى يفصل مابين الجرثومة المتكونة وطرف الهيفا ، وتتكون الجراثيم على الهيفا فرادى أو فى سلاسل ، وقد يصل عدد الكونيديات الى ١٠٠ جرثومة بالسلسلة ، محمولة على حامل كونيدى .

الجرثومة الكونيدية محاطة بغلاف Sheath يعطى لها سطحا مميزا ، وقد تكون الجراثيم شفافة أو فاتحة أو ملونة ، وذلك حسب النوع البكتيرى . وتتميز الكونيديات بأنها كارهة للماء جدا Very hydrophobic ، لوجود نسبة مرتفعة من الليبيدات فى الغلاف المحيط بالجرثومة .

ويحتوى جدار الجرثومة الكونيدية ، مثل جدار الهيفا العادية على نسبة مرتفعة من الببتيدوجلوكان ، ولكن جدار الجرثومة يتميز عن جدار الهيفا ، بعدم قابليته للتحلل بواسطة انزيم اللايسوزيم ، لوجود إختلافات فى الروابط فى تركيب الببتيدوجلوكان المكون لجدار الجرثومة عن ذلك المكون لجدار الهيفا ، ولإرتباط ببتيدوجلوكان جدار الجرثومة بمركبات أخرى تجعله غير قابل للتحلل باللايسوزيم .

وعندما تنضج الجرثومة الكونيدية ، تنفصل عن الهيفا بجدار عرضى ، وتبقى الجرثومة ساكنة بالوسط ، الى أن تتحسن الظروف ، وتعاود النشاط وتكون نموا جديدا .

ب - الجراثيم الاسبورانجية

من أجناس الاكتينومايسيتات المكونة للجراثيم الاسبورانجية ، جنس *Actinoplanes* ، وتتكون الجراثيم الاسبورانجية على الهيفات الهوائية ، ويحملها حامل اسبورانجى ، وتوجد الجراثيم داخل حافظة جرثومية مقفولة تسمى Sporangium ، وتحتوى الحافظة على مئات أو آلاف الجراثيم الاسبورانجية ، والجراثيم شكلها كروى أو بيضاوى وجدارها أملس ، وقد تكون فاتحة أو ملونة ، وعندما تنضج الجراثيم ، فإنها تنطلق من الحافظة الجرثومية بعد تمزقها ، وتعتمد الجراثيم فى انتشارها على التيارات الهوائية ، وعندما تكون الظروف مناسبة ، فإنها تنبت وتكون نموا جديدا .

٤- الجراثيم الخارجية : Exospores

جراثيم صغيرة الحجم ، كروية الشكل ، ذات سطح مجعد فى بعض الأنواع ، تتكـــون خارج الخلية الخضرية بطريقة التبرعم من أحد أطراف الخلية الأم . وتوجد هذه الجراثيـــم فـــى بعض أجناس البكتريا ، مثل *Methylosinus trichosporium* ، التـــابع لمجموعـــة البكتريـــا المؤكسدة لغاز الميثان .

تمثل الجراثيم الخارجية مرحلة سكون للبكتريا ، حيث تعاود النمو والنشاط عند تحســن الظروف ، وتمتاز هذه الجراثيم بمقاومتها للجفاف والحرارة ، غير أنها تختلـــف عـــن جراثيـــم البكتريا الداخلية فى عدم إحتوائها على حامض Dipicolinic acid (DPA) .

References **مراجع الباب الخامس**

Alberts, B.; D. Bray; J. Lewis; M. Raff; K. Roberts and J.D. Watson (1990). Molecular Biology of the Cell, Garland Pub. Co., New York.

Alcamo, I.E. (2001). Fundamentals of Microbiology. Jones and Bartlett, London.

Cole, J.A.; C. Dow and S. Mohen (eds.) (1992). Procaryotic Structure and Function: A New Perspective. Cambridge Univ. Press, New York.

Madigan, M.T.; J.M. Martinko and J. Parker (1997). Brock Biology of Microorganisms. 8th Ed. Printice Hall Int. Inc., Englewood Cliffs, N.J. USA.

Nester, E.W.; C.E. Roberts; Nancy N. Pearsall; D.G. Anderson and Martha T. Nester (1998). Microbiology 2nd Ed., Mc Graw-Hill Book Co., Inc. New York.

Pelczar, M.J.Jr.; E.C.S. Chan and N.R. Krieg (1999). Microbiology, Mc Graw-Hill Book Co. Inc., New York.

Schlegel, H.G. (1995). General Microbiology. Cambridge Univ. Press, New York.

﴿الباب السادس﴾

نمو وتكاثر البكتريا

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة

﴿الباب السادس – الفصل الأول﴾

تكاثر البكتريا

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة

المحتويات

الموضوع	الصفحة

(الباب السادس)

نمو وتكاثر البكتريا
Growth and Reproduction of Bacteria

مقدمة

تعبر كلمة نمو Growth عن الزيادة التى تحدث فى الكتلة الخلوية Cell mass بخلايا الكائن ، سواء أكان ذلك فى كتلة خلية واحدة ، أو فى كتلة مجموعة من الخلايا التى تشكل مستعمرة أو نسيجا . بينما تعبر كلمة تكاثر Reproduction ، عن الزيادة التى تحدث فى عدد خلايا الكائن Cell numbers ، نتيجة لإنقسام خلاياه .

وفى الكائنات الدقيقة التى تتكون من خلية واحدة كالبكتريا ، فإن كلمة النمو تستعمل عادة مرادفة لكلمة التكاثر ، ويقصد بأى منهما الزيادة فى عدد خلايا الكائن البكتيرى .

ويتأثر النمو البكتيرى بالظروف المحيطة تأثرا كبيرا ، سواء أكانت هذه الظروف طبيعية مثل الحرارة والرطوبة والتهوية والضوء ... الخ ، أو كيميائية مثل توافر العناصر الغذائية القابلة للتمثيل ، وجود مواد سامة ... الخ ، أو بيولوجية مثل التعاون والتضاد بين الكائنات .

وتحت الظروف المناسبة ، فإن الخلايا البكتيرية الملقحة بالبيئة المزرعية ، تزداد حجما ، وتتضاعف عدداً ، خلال فترة زمنية قصيرة ، ويصل النمو لأقصاه فى بعض الأنواع البكتيرية خلال ٢٤ ساعة من التلقيح ، وفى البعض الآخر قد يحتاج لفترة أطول من ذلك ، ويتم التكاثر فى معظم أنواع البكتريا بطريقة الانقسام الثنائى البسيط ، وإن كان بعضها يتكاثر بطرق أخرى كالتبرعم أو بغيرها من الطرق .

وعند زراعة البكتريا ، تستعمل الوسائل المناسبة لحث البكتريا على النمو والتكاثر ، ويتضمن ذلك توفير الوسط الغذائى المناسب ، المسمى بالبيئة المزرعية Culture medium ، وفى أغلب الأعمال الميكروبيولوجية ، فإن زراعة البكتريا تتم معمليا *in vitro* ، أى فى أوانى زجاجية كأنابيب الاختبار والدوارق والأطباق ، وفى الاستخدامات التجارية ، تنمى البكتريا فى أوعية مناسبة كبيرة الحجم ، (بلاستيكية أو معدنية) ، أو مخمرات ... أو غيرها .

وسنستعرض فيما يلى نظم تكاثر وتنمية وعد البكتريا وأنماطها الغذائية ، وبيئاتها المزرعية .

(الباب السادس – الفصل الأول)
تكاثر البكتريا

Reproduction of Bacteria

يتم التكاثر فى البكتريا أساسا لاجنسيا ، وهناك طرق جنسية لانتقال بعض الصفات الوراثية بين الخلايا المختلفة ، كالتزاوج الذى يحدث بين الخلايا (راجع الباب الثامن ، الفصل الثانى) ، ولكن لاتوجد بين خلايا البكتريا دورة جنسية تؤدى إلى تكوين زيجوت بالمستوى الموجود فى الكائنات الأكثر رقيا.

يتم التكاثر اللاجنسى فى البكتريا بطريقة لاتزاوجية ، وذلك بعدة طرق هى الانقسام الثنائى البسيط ، تجزئة الميسليوم ، التبرعم ، تكوين الجراثيم الكونيدية ، تكوين الجراثيم الاسبورانجية ، أو بغيرها من الجراثيم .

الأنقسام الثنائى البسيط : Simple binary fission

تعتبر طريقة الأنقسام الثنائى البسيط ، وقد تسمى بطريقة الانقسام الثنائى المستعرض البسيط Simple transverse binary fission ، تعتبر طريقة التكاثر الأساسية فى البكتريا الحقيقية .

وتتلخص خطوات الانقسام بطريقة الانقسام الثنائى البسيط ، فيما يلى[شكل ٦ (١) – ١] .

١ – زيادة فى المحتويات البروتوبلازمية الداخلية للخلية ، نتيجة تكون مواد جديدة بها ، مع زيادة فى طول الخلية .

٢ – تضاعف المحتويات الخلوية الوراثية (الجينوم) * .
ويلاحظ أن المادة الوراثية للخلية البكتيرية (الكروموسوم البكتيرى) ، عبارة عن جزىء دنا واحد دائرى ، متصل بإنحناءات الغشاء السيتوبلازمى المسماه بالميسوسوم ، ويلعب الميسوسوم دوراً هاما فى تضاعف انفصال الكروموسوم البكتيرى ، بما يحتويه من الانزيمات اللازمة لتضاعف الأحماض النووية وتكوين الكروموسوم الجديد .

٣– يعقب ذلك تكون غشاء سيتوبلازمى عرضى بالخلية Transverse membrane ، وينشأ الغشاء بظهور بروزان جانبيان فى منطقتين متقابلتين ، يخرجان من السطح الداخلى بالغشاء السيتوبلازمى ،وينموان متقابلين فى إتجاه مركز الخلية على طول المحور العرضى ثم يلتحم البروزان وبذلك يتكون الغشاء العرضى بالخلية ، وتنفصل الخلية الى جزئين ، كل جزء منهما يحتوى على جينوم .

٤– ينشق الغشاء العرضى الذى تكون ، الى غشائين منفصلين نتيجة لتكون جدار خلوى بين الغشائين . ويتكون الجدار الخلوى من خارج الخلية الى داخلها .

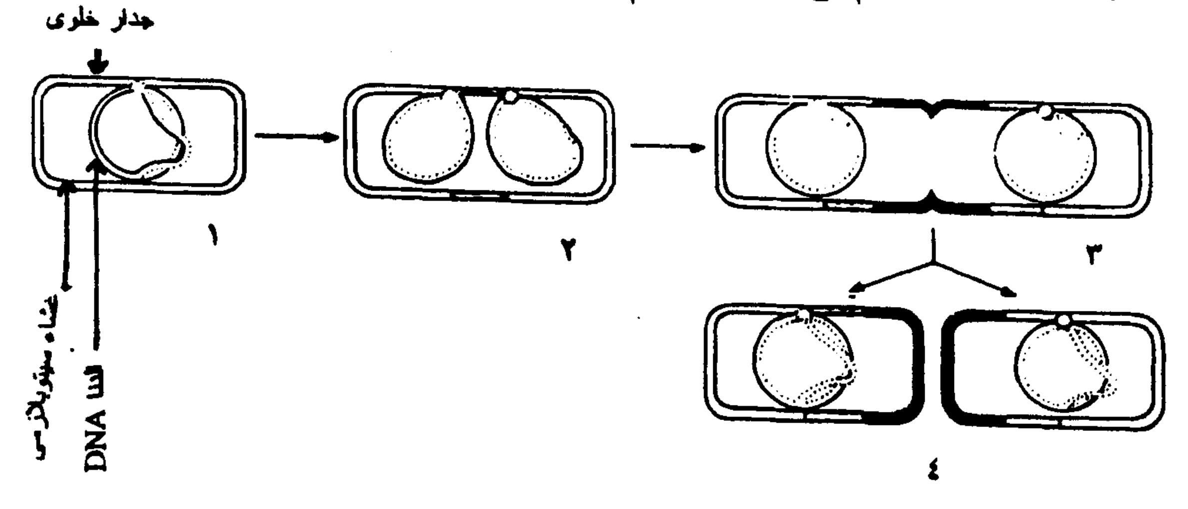
---

* راجع تضاعف خيوط حامض الدنا ، بالباب الخامس ، الفصل الثالث ، وراجع ص ٢٧١ .

٥- يعقب ذلك إنشطار الجدار الخلوى المتكون بدوره طوليا إلى قسمين ، وبذلك تصبح الخلية خليتان .

والخليتان الجديدتان قد ينفصلا عن بعضهما مباشرة ، أو يحدث الانفصال بعد مدة ، أو يظلا ملتصقين ليكونا مع غيرهما سلسلة من الخلايا أو من التجمعات ، وذلك حسب النوع البكتيرى .

الخلية البنوية الجديدة الناتجة ، تحمل الصفات الأصلية للخلية الأم ، كما أن النظام الوراثى الخلوى ، هو الذى يتحكم فى عملية الانقسام .



شكل ٦ (١) - ١ : الانقسام الثنائى البسيط
١- بدء انقسام الدنا DNA
٢- تضاعف الدنا واستطالة الخلية .
٣- بدء تكون الحاجز العرضى الفاصل بين جزئى الخلية .
٤- استكمال تكون وانشطار الجدار الخلوى ، وتكون الخليتان البنويتان الجديدتان ، وبكل خلية ناتجة مادتها النوويه

من طرق التكاثر اللاجنسى الأخرى ، التى توجد فى بعض أنواع البكتريا

١- تجزئة الميسليوم : Fragmentation

بعض الأنواع البكتيرية تتكاثر لاجنسيا بتجزئة الميسليوم الى عدة خلايا ، وتستطيع كل خلية ناتجة تكوين ميسليوم جديد ، من هذه الأنواع ما يتبع أجناس *Actinomyces & Dermatophilus* .

ومن البكتريا التى تكون نموا خيطيا كثيفا ، *Nocardia* ، وتتكاثر بتجزئة الهيفات إلى خلايا صغيرة ، كروية أو عصوية الشكل ، كل منها ينمو ليكون نموا جديدا .

٢- التبرعــم : **Budding**

بعض أنواع البكتريا مثــل *Rhodopseudomonas acidophila* تتكــاثر بــالتبرعم . ويحدث التبرعم نتيجة لتكون بروز فى أحد أطراف الخلية يسمى برعم Bud ، يبرز البرعم على سطح الخلية من الجدار الخلوى والغشاء السيتوبلازمى ، ويندفع إليه جــزء مــن الســيتوبلازم والمادة الوراثية .

يكبر البرعم فى الحجم مكونا لخلية جديدة ، وينفصل عن الخلية الأم بجــدار فــاصل ، ويصبح البرعم خلية مستقلة ويعاود تكاثره .

فى بعض الأنواع البكتيرية ، مثل تلك التابعة لجنس *Hyphomicrobium* ، يتكون البرعم فــى طرف زائدة تسمى Prostheca . وهذه الزائدة عبارة عن إمتداد يمتد من الغشاء الســيتوبلازمى وجدار الخلية ، إلى خارج الخلية (أنظر ص ص ١٧٥ و ٢٠٠) .

٣- الجراثيم الكونيدية : **Conidiospores**

تتكون الجراثيم الكونيدية ببعض أنواع الأكتينومايسيتات مثــل تلــك التابعــة لجنــس *Streptomyces* . تتكون خارجيا بطرف هيفا الاستربتومايسيس ، وقد توجد هذه الجراثيم بطرف الهيفا ، مفردة أو فى أزواج أو فى سلاسل (راجع الجراثيم الكونيدية بالباب الخامس ، الفصــل الرابع ، ص ٢٩٣) .

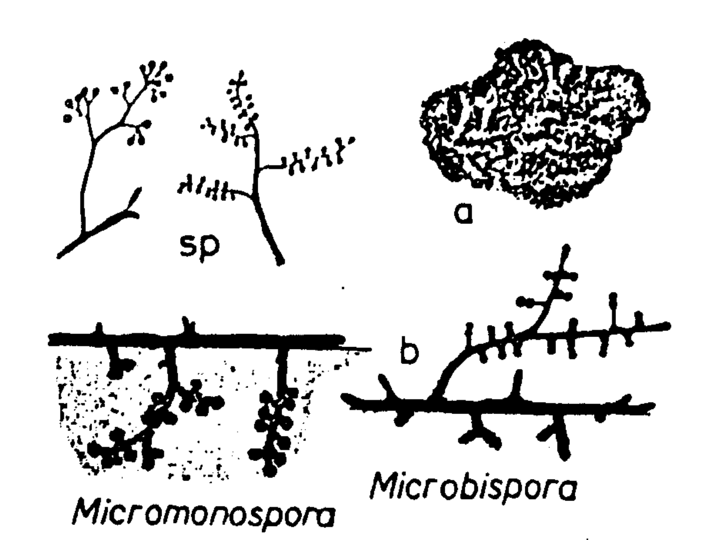
عندما تنضج الجرثومة تنفصل عن الهيفا بجدار عرضى ، وكل جرثومة تنبــت فــى الوسط المناسب لتكون كائنا جديدا . وتبدأ الجرثومة فى النمو ، بتكوين ميســليوم يمتــد داخليــا بالوسط البيئى ، ثم يلى ذلك تكون ميسليوم هوائى يمتد لأعلى ، ليحمــل الجراثيــم الكونيديــة ، وشكل [٦ (١) - ٢] يبين الجراثيم الكونيدية فى *Micromonospora & Microbispora* .

٤- الجراثيم الاسبورانجية : **Sporangiospores**

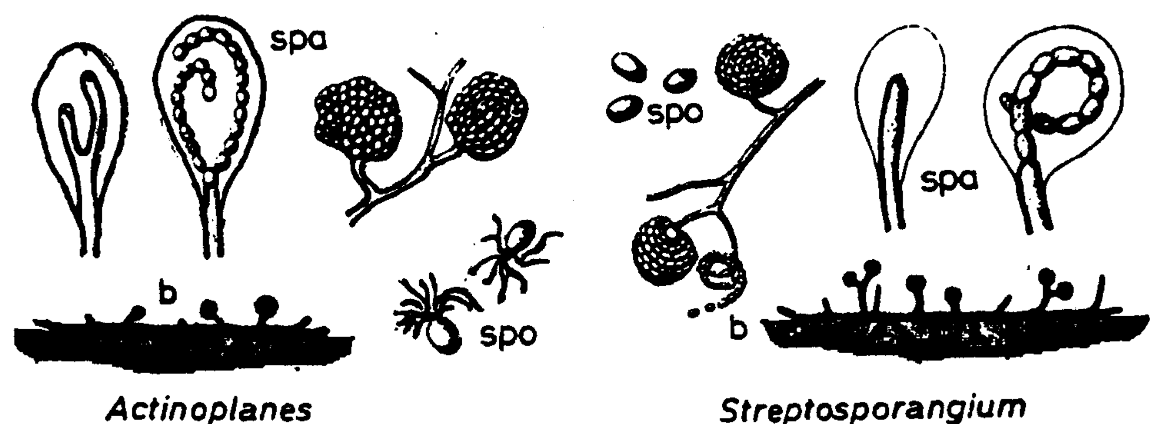
من البكتريا التى تتكاثر بالجراثيم الاسبورانجية ، أنواع من الأكتينومايسيتات مثل تلــك التابعة لجنس *Actinoplanes* . تنمو هذه البكتريا على حبوب اللقاح الموجودة على سطح المــاء، وتكون البكتريا على هيفاتها ، الجراثيم الاسبورانجية ، بداخل كيس خــاص يســمى بالحافظــة الاسبورانجية Sporangium ، ويحتوى الكيس على العديد من الجراثيم الاســبورانجية ، التــى عندما تنبت تكون نموا جديدا (راجع الجراثيم الكونيدية والاسبورانجية بالباب الخامس ، الفصــل الرابع ، ص ٢٩٣) .

وشــكل [٦ (١) - ٣] يبيــن الجراثيــم الاســبورانجية فــى جنســى *Actinoplanes & Streptosporangium* .

٥- من طرق التكاثر اللاجنسى التى توجد فى بعض أجناس السيانوبكتريا ، التكــاثر بواســطة الهرموجونيا ، والأكينيت ، والجراثيم القزمية المسماه بجراثيم البايوسايت (راجع تكــاثر السيانوبكتريا بالباب الخامس عشر ، ثالثا ، ص ١٠٩٣ وماليها) .



شكل ٦ (١) - ٢: الجراثيم الكونيدية فى بعض الأكتينومايسيتات.
a - مستعمرة من الخلايا نامية على سطح بيئة صلبة .
b - قطاع عرضى فى مستعمرة نامية على سطح بيئة ، صلبة
sp - حوامل الجراثيم الكونيدية وعليها الجراثيم الكونيدية



شكل ٦ (١) - ٣ : الجراثيم الاسبورانجية فى بعض الأكتينومايسيتات
b : هيفات البكتريا الممتدة خلال بيئة الأجار
spa : الحوافظ الاسبورانجية
spo : جراثيم اسبورانجية بأسواط وبدون أسواط

منحنى النمو البكتيرى
Bacterial growth curve

حساب عمر الجيل

تتكاثر أغلب أنواع البكتريا بمعدل سريع ، فإذا ماوضعت خلية بكتيرية واحدة مثل *E. coli* فى بيئة غذائية ملائمة وظروف نمو مناسبة ، فإنها تنقسم بالانقسام الثنائى لتصبح خليتين بعد ٢٠ دقيقة ، وتستمر الخلايا الناتجة فى الانقسام المتكرر ، وإذا ماأستمر هذا المعدل فى التكاثر ثابتا ، فإن الخلية الواحدة سوف تعطى مليار خلية بعد ١٠ ساعات ، ولكن التكاثر لايستمر بهذا المعدل الى مالانهاية ، بسبب استهلاك مكونات البيئة الغذائية ، وتراكم نواتج تمثيل البكتريا ، وموت العديد منها ، ويزداد معدل موت الخلايا بتقدم عمر المزرعة البكتيرية .

ولاتتكاثر كل الأنواع البكتيرية فى المزرعة بسرعة واحدة ، فعمر الجيل (g) Generation time ، عباره عن الفترة التى تمر بين أنقسامين متتاليين ، يختلف فى كثير من الأنواع بين ٢٠ الى ٤٠ دقيقة ، وقد يصل إلى عدة ساعات فى الأنواع البطيئة النمو [أنظر جدول ٦ (١) - ١] .

ويعبر عمر الجيل (g) كما ذكر ، عن الفترة التى تمر بين إنقسامين متتاليين ، أى يعبر عن الوقت الذى يمر لكى يتضاعف عدد Number الخلايا البكتيرية . بينما يعبر زمن التضاعف Doubling time (t_d) ، عن الوقت الذى يمر لتتضاعف الكتلة Mass الخلوية البكتيرية .

ويلاحظ أن الزيادة فى أعداد الخلايا البكتيرية ، لايكون متماثلاً دائما مع الزيادة فى كتلة الخلايا البكتيرية ، فالعلاقة بين العدد والوزن تتغير على مدار مراحل نمو المزرعة البكتيرية ، ويتساوى عمر الجيل (g) مع زمن التضاعف (t_d) ، عندما يتضاعف كلا من عدد الخلايا البكتيرية والكتلة الخلوية البكتيرية ، فى نفس الفترة الزمنية .

ويعبر مقلوب عمر الجيل 1/g ، وقد يسمى بمعدل الانقسام Rate of division ويرمز له بالرمز (v) ، يعبر عن عدد مرات التضاعف لكل ساعة (أى عدد الأجيال المتكونة Number of generations ، أو عدد الانقسامات الخلوية التى تتم ، فى وحدة الزمن) .

ويحسب عمر الجيل (g) أثناء الطور اللوغاريتمى Exponential phase من منحنى النمو ، حيث تزداد أعداد الخلايا بزيادة أسيه٢^٠ ← ٢^١ ← ٢^٢ ← ٢^٣ ← ٢ⁿ ، أى بمعدل ثابت لكل فترة زمنية ، فإذا مااحتوت وحدة حجمية من مزرعة نامية بطريقة الدفعة الواحدة على عدد من الخلايا فى البداية قدره N_0 ، فإن عدد الخلايا N فى نهاية زمن التجربة t ، بعد عدد من الانقسامات n ، يصبح $N_0 \times 2^n$ ، بمعنى أن $N = N_0 \times 2^n$

وباستخدام اللوغاريتمات ، فإن

$$\log N = \log N_0 + n \log 2$$

$$\therefore n = \frac{\log N - \log N_0}{\log 2}$$

ويعبر عن عدد الانقسامات بالنسبة لوحدة الزمن ، بمعدل الانقسام v، ، Division rate ، حيث

$$v = \frac{n}{t} = \frac{\log N - \log N_0}{\log 2\,(t_1 - t_0)}$$

t = زمن نمو المزرعة من البداية t_0 الى النهاية t_1

وبكون عمر الجيل generation time (g)

$$g = \frac{t}{n} = \frac{1}{v}$$

مثال : إذا تكاثرت مزرعة بكتيرية لمدة ١٠ ساعات وتزايدت أعداد الخلايا من ١٠^{٣} إلـــى ١٠^{٩}/مــل ، فإن معدل الانقسام (v) =

$$v = \frac{\log 10^9 - \log 10^3}{0.3010 \times 10} = \frac{6}{3} = 2$$

أى أن v = ٢ انقسام/ساعة

$\because$ v = n/t i.e. 2 = n/10

$\therefore$ n = 20

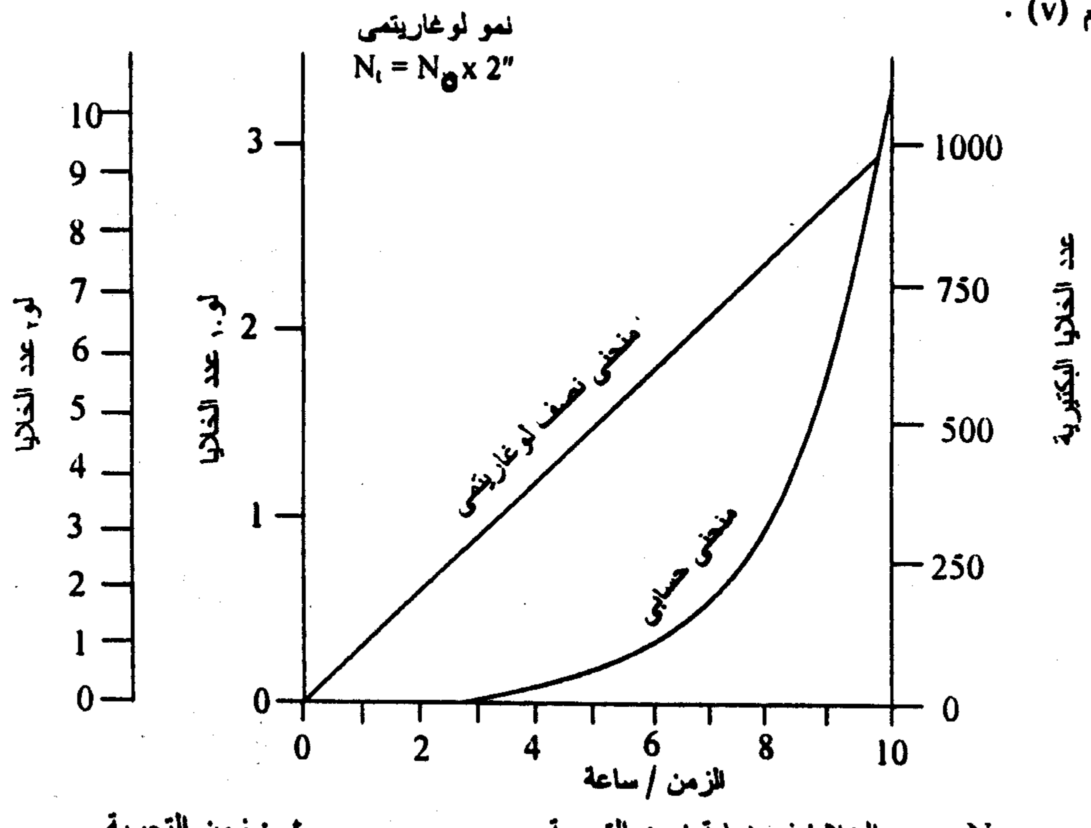
أى أن n (عدد الانقسامات أى عدد الأجيال التى تكونت) = ٢٠ انقسام/ساعة

وحيث أن عمر الجيل g = $\frac{t}{n}$

$\therefore$ g = $\frac{١٠}{٢٠}$ = $\frac{١}{٢}$ ساعة

بمعنى أن عمر الجيل g = نصف ساعة

عند رسم علاقة بيانية بين أعداد مزرعة بكتيرية (أو كتلة الخلايا) على الاحداثي الرأسي ، والزمن على الاحداثي الأفقي ، نحصل على منحنى بياني حسابي لايلائم العدد الهائل من الإنقسامات ، وبالتالي لاتظهر الاعداد بوضوح إلا في البداية وفي نهاية التجربة ، لذلك يفضل تسجيل النتائج باستخدام العرض البياني النصف لوغاريتمي Semi-logarithmic diagram [شكل ٦ (١) - ٤] ، حيث يوقع لوغاريتم اعداد الخلايا أو كثافتها على الاحداثي الرأسي ، بينما يوقع الزمن على الاحداثي الأفقي ، وبذلك يبدو منحنى النمو اللوغاريتمي كخط مستقيم ، ذو انحدار (ميل) يطابق معدل الانقسام ، إذ أن هناك علاقة طردية بين الميل ومعدل الانقسام (٧) .



t : زمن التجربة
n : عدد الانقسامات
N_t : عدد الخلايا في نهاية زمن التجربة
N_0 : عدد الخلايا في بداية التجربة

شكل ٦ (١) - ٤ : النمو اللوغاريتمي للكائنات وحيدة الخلية .
عدد الخلايا النامية ، موضح بالشكل كمنحنى حسابي وكمنحنى نصف لوغاريتمي ، مقابل الزمن .

وعند تقدير عمر الجيل (g) لنوع بكتيري نامي في بيئة مزرعية ، فإن التقدير الذي نحصل عليه ، يعبر عن حالة الخلايا الموجودة بذلك التجمع البكتيري بما فيه من خلايا نشطة وأخرى غير نشطة (غير قادرة على الانقسام) وهو مايسمى بنظام تكاثر الهدم الذاتي Autocatalytically multiplying system ، ولذلك فإن عمر الجيل المتحصل عليه ، يكون عادة أقل من الواقع بالنسبة للخلايا النشطة ، وعليه فإنه من الأفضل عند دراسة حركيات النمو استخدام تعبير كثافة ميكروبية ، (×) Microbial density ، بدلا من أعداد ميكروبية .

وتتناسب الكثافة الميكروبية (x) طرديا مع معدل التغير $\frac{dx}{dt}$ للكتلة الخلوية ، وذلك بالنسبة لوحدة الزمن (t)

$$\frac{dx}{dt} \; \alpha \; (x) \; .... \; (1)$$

$$\frac{dx}{dt} = \mu \; (x) \; .... \; (2)$$

حيث μ = معدل ثابت النمو Growth constant

وبإجراء التكامل تصبح المعادلة (2)

$$X = X_0 \, . \; e^{\mu t}$$

أما بالنسبـــة لتضاعف x ، فإن

$$2X_0 = X_0 \, . \, e^{\mu t} \, d$$

$$\therefore 2 = e^{\mu t} \, d \quad or \quad In \; 2 = \mu t_d$$

$$i.e. \; \mu = \frac{ln_2}{t_d} = \frac{0.693}{t_d}$$

ومن هنا نجد أن ثابت النمو (Growth constant) μ ، له علاقـــة بمقلـــوب زمـــن التضـــاعف Doubling time ، وأيضا له علاقة طردية مع معدل الانقسام (v)

$$v = \frac{1}{t_d} = \frac{\mu}{0.693}$$

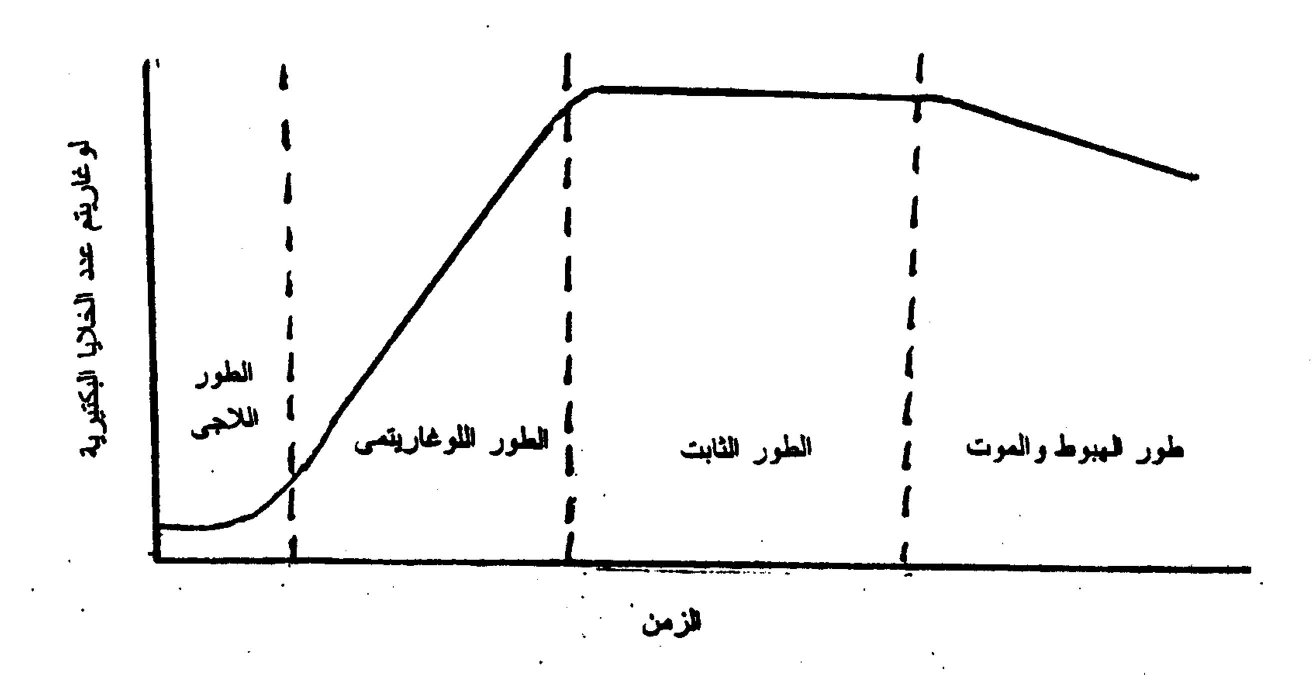
أطوار النمو البكترى

إن معدل النمو والتكاثر البكتيرى ، حتى فى البيئة الملائمة ذات الظروف المناسبة ، لايكون ثابتا ، بل يحدث للبكتريا النامية بالمزرعة تطورات مختلفة فى العدد والشكل ، وذلك فى مراحل النمو المختلفة ، ويمكن معرفة ذلك عن طريق عد وفحص البكتريا النامية بالمزرعة على فترات ، وإذا ماعمل منحنى يربط لوغاريتم أعداد خلايا البكتريا بالزمن ، سينتج منحنى ذو شكل سيجمويدى (الشكل السينى) Sigmoid curve ، وسيظهر بالمنحنى أربعة أطوار مختلفة لمراحل النمو البكتيرى ، ويسمى المنحنى الناتج ، **بمنحنى النمو البكتيرى Bacterial growth curve** .

ويوجد بين كل طور نمو وآخر ، **فترة إنتقالية Transitional period** ، تظهر منحنية بالشكل [٦ (١) – ٥] ، وتمثل الفترة الانتقالية الوقت اللازم لكى تدخل كل خلايا المزرعة ، فى الطور الجديد التالى من أطوار النمو .

ويمثل الشكل التالى [شكل ٦ (١) – ٥] ، منحنى النمو النموذجى للبكتريا ، وأطوار هذا المنحنى أربعة ، هى

١- **الطور اللاجى Lag phase** ، وقد يسمى بطور الركود .
٢- **الطور اللوغاريتمى Log (Exponential) phase** ، وقد يسمى بطور النمو الأسى ، أو بطور التكاثر السريع .
٣- **الطور الثابت Stationary phase** ، وقد يسمى بطور الثبوت ، أو بطور الثبات .
٤- **طور الهبوط Decline (Death) phase** ، وقد يسمى بطور الإنحدار أو بطور الموت .



شكل ٦ (١) – ٥ : منحنى النمو البكتيرى .

١- الطور اللاجى : Lag phase

عقب تلقيح البيئة الغذائية بالبكتريا ، فإن البكتريا تتوقف عن الانقسام لفترة من الزمن ، ثم تبدأ الخلايا فى الانقسام ببطء ، ثم يسرع معدل الانقسام حتى يصل الى درجة يثبت عندها .

وتعرف الفترة من بدء التلقيح والتى تكون فيها الخلايا البكتيرية متوقفة عن الانقسام أو بطيئة جداً فى الانقسام ، حتى تصل سرعة الانقسام الى درجة سريعة ثابتة ، تعرف باسم الطور اللاجى ، ورغم أن الخلايا البكتيرية فى الطور اللاجى لاتنقسم أو تنقسم ببطء شديد جدا ، إلا أنها لاتكون خاملة ، بل نشطة فسيولوجيا ، وتكون عملية التخليق البروتوبلازمى بداخلها مستمرة .

وفى الطور اللاجى يزداد تنفس الخلايا البكتيرية ، ويزداد معدل أيضها الغذائى ، ويزداد حجمها ، وقد يصل حجم الخلايا البكتيرية الى ضعف أو ثلاثة أضعاف حجمها الأصلى ، بمعنى أن معدل الزيادة فى الكتلة الخلوية ، يكون أكبر من معدل الزيادة فى عدد الخلايا . أما البروتوبلازم الخلوى فإنه يكون متجانسا ، لإختفاء مابه من حبيبات مخزنة .

تطول أو تقصر مدة الطور اللاجى ، تبعا لعوامل كثيرة

* فتقصر مدة هذا الطور ، إذا كانت كمية اللقاح المضافة للبيئة كبيرة ، واذا كان اللقاح ماخوذ من خلايا صغيرة العمر نشطة ، وإذا كان الوسط الجديد مناسبا للنمو ، ومشابها للوسط السابق الذى كانت خلايا اللقاح نامية به .
* وعلى العكس مما سبق ، فإن مدة الطور اللاجى تطول ، اذا كانت كمية اللقاح المضافة للبيئة قليلة ، وإذا كانت خلايا اللقاح مسنة أو متجرثمة ، وإذا كانت البيئة الجديدة مختلفة عن تلك التى كان اللقاح ناميا بها .

ولذلك فإنه من الأهمية بمكان ، معرفة العوامل التى تؤثر على طول أو قصر فترة الطور اللاجى ، لأهمية ذلك فى النواحى التطبيقية ، كالصناعات الغذائية والتخميرية وغيرها .

وقد وضعت تفسيرات عديدة ، تفسر سبب حدوث الطور اللاجى ، عند وضع البكتريا فى البيئة الجديدة ، من هذه التفسيرات

* أن خلايا اللقاح المضافة إلى البيئة الجديدة ، يلزمها بعض الوقت لتخليق مايلزمها من رنا RNA ، ورايبوسومات ، وإنزيمات ... الخ ، لتتلاءم الخلايا مع الظروف الجديدة للوسط ، قبل أن تبدأ فى عملية التكاثر السريع .
* يلزم للبكتريا المضافة الى البيئة الجديدة ، بعض الوقت لتخليق الانزيمات الخاصة بالتعامل مع المكونات التى توجد فى تلك البيئة الجديدة ، وذلك لإحداث تغيرات معينة بها ، حتى تصبح تلك البيئة الجديدة مناسبة للخلايا البكتيرية ، قبل أن تبدأ الخلايا فى التكاثر السريع .

٢- الطور اللوغاريتمى : Logarithmic (Log) phase

فى نهاية الطور اللاجى بمنحنى النمو البكتيرى ، تدخل الخلايا البكتيرية فى مرحلة الطور اللوغاريتمى ، الذى يستمر حتى بداية الطور الثابت .

وسمى الطور اللوغاريتمى بهذا الاسم ، لأن معدل تكاثر الخلايا البكتيرية فى هذا الطور يكون لوغاريتميا ، بمعنى أن عدد الخلايا يزداد زيادة لوغاريتيمة مع مرور الزمن ، والعلاقة البيانية بينهما ، تكون خطية ، وربط لوغاريتم العدد مع الزمن ، يشكل خطا مستقيما .

والطور اللوغاريتمى هو طور التكاثر السريع للبكتريا ، حيث تصل سرعة التكاثر فى هذا الطور الى أقصاها ، ويكون عمر الجيل ثابتا ، بالنسبة للنوع الواحد ، كما تكون معدلات الزيادة الاسية فى كل من العدد الخلوى (أو الكتلة الخلوية) ، والمحتوى البروتينى والمكونات النووية (الدنا والرنا) ، ثابتا فى وحدة الزمن .

وفى الطور اللوغاريتمى تظهر الخلايا البكتيرية صغيرة الحجم ، ويبقى البروتوبلازم الخلوى متجانسا ، ويبدأ ظهور الحبيبات المخزنة فى البروتوبلازم قرب نهاية الطور اللوغاريتمى .

وتتوقف طول مدة الطور اللوغاريتمى ، على الظروف البيئية المؤثرة على نمو البكتريا بالوسط ، فيصل النمو بالمزرعة لأقصاه عند توفر الغذاء الملائم للبكتريا بالبيئة ، وعند درجة الحرارة المثلى ، و (ق يد) المناسبة ، وبعدم حدوث تراكم لنواتج الأيض بالبيئة .

وعلى ذلك ، فإنه يمكن إطالة الطور اللوغاريتمى ، بإضافة مواد غذائية بدل تلك التى استهلكت، وسحب أو معادلة المواد السامة الناتجة من الأيض الغذائى .

ويعتبر الطور اللوغاريتمى كما ذكر سابقا ، أنسب الأطوار لقياس معدلات النمو ، فى مزارع ذات الدفعة الواحدة ، حيث يمكن فى هذا الطور تقدير عمر الجيل (g) ، وعدد الأجيال (n) ، ومعدل الانقسام (v) ... الخ ، وذلك من خلال تجربة معملية ، تتم بتلقيح عدد من الخلايا فى بيئة ملائمة ، ثم التحضين تحت ظروف بيئية مناسبة ، وتقدير أعداد البكتريا الموجودة فى بداية التجربة وفى نهايتها .

عمر الجيل : Generation time

يكون عمر الجيل ثابتا خلال فترة الطور اللوغاريتمى . ويحدد عمر الجيل العوامل الوراثية الخاصة بالنوع البكتيرى الملقح بالمزرعة ، والظروف البيئية السائدة بالوسط الغذائى . وتحت الظروف البيئية المناسبة ، يكون عمر الجيل حوالى ٢٠ دقيقة لبكتريا *E. coli* & *B. cereus* عند النمو على ٣٧°م ، و٣٥ دقيقة للسيدوموناس ، و ٢ ساعة للرايزوبيوم ، و٤ ساعات للأزوتوباكتر ، بينما يمتد عمر الجيل الى عدة ساعات ، فى حالة البكتريا بطيئة النمو مثل النتروزوموناس (من ٥-١٠ ساعات) .

وجدول [٦ (١) - ١] يوضح عمر الجيل لبعض أنواع البكتريا .

جدول ٦ (١) - ١ : عمر الجيل لبعض أنواع البكتريا* .

البكتريا	البيئة	درجة حرارة النمو °م	عمر الجيل بالدقيقة
Escherichia coli	مرق مغذى	٣٧	١٧
Bacillus thermophilus	مــــرق	٥٥	١٨,٥
Streptococcus lactis	لبــــن	٣٧	٢٦
Streptococcus lactis	مرق لاكتوز	٣٧	٤٨
Staphylococcus aureus	مــــرق	٣٧	٣٠
Bradyrhizobium japonicum	أملاح معدنية ومستخلص خميرة ومانيتول	٢٥	٤٢٠
Mycobacterium tuberculosis	تركيبية (Lowenstein)	٣٧	٩٣٢-٧٩٢
Treponema pallidum	خصيــة أرنب	٣٧	١٩٨٠

* **Pelczar M. J. Jr. and E.C.S. Chan (1981). Elements of Microbiology.** Mc Graw-Hill Book Co. Inc., New York.

٣- الطور الثابت : Stationary phase

عند نهاية الطور اللوغاريتمى ، يبطوء معدل تكاثر البكتريا ، بمعنى أن الخلايا تستمر فى نشاطها ، ولكن تكاثرها يكون بطيئا ، ويصبح عدد الخلايا فى المزرعة ثابتا تقريبا ، وبذلك تكون الخلايا الجديدة المتكونة مساوية لعدد الخلايا الميتة .

وفى بداية الطور الثابت ، تظهر الخلايا البكتيرية متجانسة الشكل والحجم ، وبمرور الوقت تبدأ المواد المخزنة فى الظهور بوضوح فى الخلايا ، كما تظهر الجراثيم فى الأنواع المتجرثمة .

وتوقف البكتريا عن الاستمرار فى الطور اللوغاريتمى ، ثم الدخول فى الطور الثابت ، ينتج من زيادة تركيز الخلايا البكتيرية بالبيئة ، ونفاذ بعض مواد البيئة المغذية ، وتراكم نواتج الأيض (مثل الأحماض) ، وانخفاض ضغط الأكسجين بالبيئة ، بدرجة تضر بالبكتريا ، بينما يستمر تخليق بعض الانزيمات أثناء هذه المرحلة .

ويتوقف تأثير هذه العوامل المختلفة على طبيعة العامل المحدد للنمو ، وعلى النوع البكتيرى نفسه ، فقد تموت بسرعة البكتريا الحساسة ، بينما تبقى الأنواع الأخرى حية لفترة أطول ، وتستمد مايلزمها من طاقة عن طريق تمثيل البروتين والمواد المخزنة بها .

ويمكن إطالة الطور الثابت بإضافة مواد مغذية جديدة للبيئة بدلا من تلك التي استهلكت ، وبمعادلة أو سحب نواتج الأيض الضارة ، أو بتجفيف المزرعة ، أو بتخزينها على درجة حرارة منخفضة ، حيث أن خفض درجة الحرارة يبطيء عملية الايض الغذائي .

وكلما زاد أثر العوامل الضارة ، وكلما كانت الظروف البيئية غير مناسبة ، كلما زادت حساسية الخلايا الموجودة بالمزرعة ، وقصرت فترة الطور الثابت ، بحيث يمكن أن ينتهي هذا الطور ، وتدخل البكتريا فيما يسمى بطور الهبوط .

وفي بداية الطور الثابت تجرى الإختبارات الميكروبيولوجية على البكتريا المنماة ، كما يستفاد عمليا من خاصية تخزين البكتريا على درجة حرارة منخفضة وهي في الطور الثابت ، لحفظ مزارع البكتريا العقدية ، وبادئات المنتجات اللبنية ، والخميرة المضغوطة ، واللقاحات ، وغيرها من المزارع لحين توزيعها للاستعمال .

وتعرف كمية النمو البكتيرى الذى أمكن الوصول اليها أثناء طور الثبات ، بالمحصول Yield, Y ، وتتوقف كمية المحصول الناتج ، على ظروف البيئة الغذائية وعلى ظروف النمو . ويعبر عن انمحصول بالجرام وزن جاف من الخلايا ، ويمكن تقدير المحصول تجريبيا بحساب الفرق بين أقصى كتلة خلوية بكتيرية (أو عدد خلايا) أمكن الوصول إليها بعد زمن معين ، وبين الكتلة الخلوية البكتيرية (أو عدد خلايا) التي كانت موجودة في البداية .

ويمكن حساب محصول الخلايا الناتج ، أو مايعرف بالكتلة الخلوية ، حسب المعادلة التالية

$X = X_{max} - X_o$ ، حيث

X = الوزن الجاف للمحصول الخلوى بالجرام

X_{max} = الوزن الجاف للمحصول الخلوى بالجرام بعد نهاية التجربة فى الطور الثابت

X_o = الوزن الجاف للمحصول الخلوى بالجرام عقب التلقيح مباشرة

وهناك قياسات أخرى تستخدم للتعبير عن المحصول منها

معامل المحصول (Y) Yield coefficient ، ومحصول النمو المولي (Y_m) Molar growth yield ، ومعامل طاقة المحصول (Y_{ATP}) Energy yield coefficient

ويتم حساب تلك القياسات ، كما يلى

معامل المحصول = جرام خلايا منتجة / جم مادة غذائية (S, Substrate) مستهلكة $Y = X/S$

معامل النمو المولي = جرام خلايا منتجة / مول مادة غذائية مستهلكة

$Y_m = X/ mol. Substrate$

معامل طاقة المحصول = جرام خلايا منتجة/مول ATP $Y_{ATP} = X/mol\ ATP$

ويحسب Y_{ATP} عند معرفة المسار الهدمى للميكروب وكمية الطاقة الناتجة ، ففـــى حالـــة نمـــو *E. coli & Klebsiella pneumoniae* تحت ظروف لاهوائية معتمدة على تركيز الجلوكـــوز ، كانت قيم Y_{ATP} ١٢,٤ جم خلايا كولاى/مول ATP و ١٤ جم خلايا كلبسيلا / مـــول ATP *. وفى حالة البكتريا اللاهوائية التى تحصل على كل طاقتها بالتخمر ، فان قيم Y_{ATP} تكون غالبـــا ثابتة ، وتزداد قيم Y_{ATP} بإمداد البيئة بمصادر أخرى للطاقة .

كما تختلف قيم Y_{ATP} بالنسبة للبكتريا الهوائية ، بإختلاف ظروف ومكونات البيئة الغذائية ، كـأن يستخدم النتروجين مثلا فى صورة أمونيوم ، أو نترات أو مركبات نتروجين عضوية .

٤- طور الهبوط : Decline phase

عقب الطور الثابت بمنحنى النمو ، تدخل البكتريا طور الهبوط . وفى هذا الطور يزداد معدل موت الخلايا البكتيرية عن معدل تكاثرها ، ويحدث تناقص مستمر فى أعدادهـــا الحيـــة ، ويزداد معدل تناقص الخلايا الحية فى العدد تدريجيا مع مرور الوقت ، ويصبح معدل التنـــاقص فى العدد لوغاريتميا مع الزمن ، وذلك عكس معدل الزيادة فى العدد الذى يحدث أثنـــاء الطـــور اللوغاريتمى .

وأثناء طور الهبوط ، تظهر الخلايا البكتيرية بأشكال غريبة ، وتكون غير متجانسة فى الشكل أو الحجم ، ويرى التحبب فى البروتوبلازم واضحا ، وتنفرد الجراثيـــم مـــن الخلايـــا ، وتتحلل بقايا الخلايا .

غير أنه إذا أخذ لقاح من هذه الخلايا غير المتجانسة ، ولقحت بها بيئة مناسبة ، فـــإن الخلايا تتكاثر وتعيد دورة حياتها ، وتظهر الصفات الثابتة المميزة للبكتريا فـــى بدايـــة الطـــور الثابت من منحنى النمو الجديد .

وفى طور الهبوط أو فى نهايته ، تموت الخلايا البكتيرية على فترات مختلفة ، تختلـــف بإختلاف النوع ، فبعض الكرويات السالبة لصبغة جرام تموت سريعا خلال ساعات ، وبعـــض الأنواع الأخرى تموت ببطء بعد أشهر أو سنوات . وتتحلل الخلايا البكتيرية عقب موتها تحلـــلاً ذاتيا Autolysis ، نتيجة لنشاط الانزيمات الموجودة بها .

*** From Schlegel (1995)**

تنمية البكتريا

عند تنمية البكتريا ، فإن النمو البكتيرى يتأثر بعوامل عديدة ، من أهمها تركيز المواد الغذائية الموجودة بالبيئة ، ومن هذه الناحية فإننا نجد أن البكتريا تنمى بنظم متعددة ، يمكن وضعها أساساً تحت نظامين رئيسيين هما :

* نظام مزرعة الدفعة الواحدة Batch culture method .
* نظام المزرعة المستمرة Continuous culture method .

وهناك تعديلات وطرق تجمع مابين الطريقتين السابقتين .

النمو البكتيرى بالنظم المزرعية

إذا لُقِّحت البكتريا فى بيئة مغذية ، وحُضِّنت تحت الظروف المناسبة ، فإن البكتريا ستتكاثر ، الى أن يتم استهلاك أحد المكونات الغذائية الهامة المحددة للنمو ، فإذا لم يتم إضافة أية مواد غذائية جديدة بدل تلك التى استهلكت ، أو سحبت أية نواتج خلال فترة التحضين ، فإن التنمية بهذا النظام ، تعرف بنظام المزرعة ذات الدفعة الواحدة Batch culture method .

وتعانى هذه المزارع من حدوث تغير مستمر فى الظروف المزرعية ، فنتيجة لتزايد النمو البكتيرى بالمزرعة ، تتناقص تركيزات المواد الغذائية تدريجياً ، كما تتراكم إفرازات الايض الميكروبية الضارة كالأحماض ، مما يؤثر على النمو البكتيرى .

وفى حالات عديدة من الانتاج الميكروبى ، اضافة إلى متطلبات الكثير من الدراسات الفسيولوجية ، فإن الأمر يتطلب الإبقاء على الخلايا البكتيرية فى المزرعة ، فى حالة نشطة لفترة طويلة ، وهذا يستلزم الحفاظ خلال تلك الفترة على تركيزات ثابتة من المواد الغذائية وأيضا على ظروف بيئية ثابتة ، لكى تستمر الخلايا البكتيرية الموجودة بالمزرعة ، فى طور النمو اللوغاريتمى ، بحالة ثابتة .

ويمكن تحقيق ذلك بإستمرار نقل الخلايا النامية الى بيئة مغذية طازجة ، أو باستخدام وسيلة أخرى أسهل وأكثر إحكاما ، وذلك بإضافة بيئة تنمية جديدة ، بمعدل ثابت ومعلوم ، الى المزرعة البكتيرية النامية ، مع سحب كميات مساوية من المزرعة .

وتمثل عملية إضافة مواد مغذية وسحب نواتج الأيض الضارة ، الأساس فى عمل مايعرف بنظام المزرعة المستمرة Continuous culture method ، سواء باستخدام

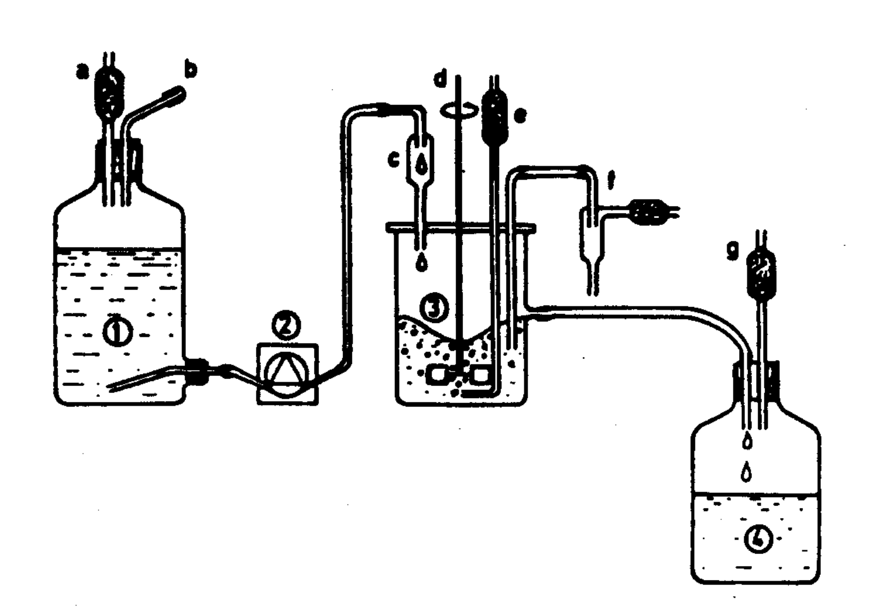
* جهاز المنظم الكيميائى ، أى الكيموستات Chemostat .
* أو الجهاز المنظم لكثافة النمو ، أى التربيدوستات Turbidostat .

النمو بنظام المزرعة المستمرة

١- النمو فى المنظم الكيميائى ، الكيموستات : Growth in chemostat

يعتمد نجاح هذه الطريقة ، على التحكم فى مكونات وتركيز مواد التفاعل المضافة الى البيئة ، والمسحوبة منها ، ويتم ذلك باستخدام جهاز الكيموستات .

ويوضح الشكل [٦ (١) - ٦] ، أساسيات نظام المزرعة المستمرة فى جهاز الكيموستات



شكل ٦ (١) - ٦ : تركيب جهاز الكيموستات ، يتركب الجهاز من

1 - مستودع للبيئة مزود بمرشح a ، وفتحة لدخول البيئة b .
2 - مضخة تمعجية Peristatic pumb ، تمد وعاء التنمية بالبيئة ، وذلك بمعدل ثابت .
3 - وعاء تنمية مزود بفتحة دخول البيئة c ، ومقلب Stirrer, d ، وفتحة لدخول الهواء خلال مرشح e ، ومكان لأخذ العينات f .
4 - وعاء لتجميعماينساب من المزرعة ، مزود بمرشح هوائى g لخروج الغازات .

يتم ضخ الهواء بوعاء التنمية ، مع التقليب الميكانيكى لمحتوياته ، للتأكد من توزيع الهواء والمواد المغذية توزيعا منتظما ومتماثلا ، فى كل أجزاء الوعاء .

ويتم إضافة البيئة الغذائية الطازجة الى وعاء التنمية بمعدل ثابت ومستمر ، مع سحب قدر مماثل من المزرعة البكتيرية بنفس المعدل ، ويقدر معدل التخفيف باللتر Dilution rate, D، وهو يمثل معدل الإستبدال الحجمى لمحتويات المزرعة فى الساعة ، وذلك من المعادلة التالية

$$D = \frac{f}{v}$$ أى أن $$\text{معدل التخفيف باللتر} = \frac{\text{معدل إضافة البيئة إلى المزرعة لتر/ساعة}}{\text{حجم المزرعة النامية باللتر}}$$

ومع معدل التخفيف المستخدم بالكيموستات ، فإنه سواء لم تنمو البكتريا أو نمت ببطء بوعاء التنمية ، فإنه يحدث غسيل Wash-out للخلايا البكتيرية من وعاء التنمية ، بمعدل يعرف بمعدل الغسيل Washout rate, Dx ، وهذا المعدل يساوى

$$Dx = \frac{dx}{dt}$$ أى أن $$\text{معدل الغسيل} = \frac{\text{الفرق فى وزن الخلايا بالجرام}}{\text{الفرق فى زمن التجربة بالساعة}}$$

ويكون التناقص فى تركيز الميكروب تناقصا أسيا على النحو التالى

$$X = X_o . e^{-Dt}$$

بينما عند استمرار نمو الميكروب أسيا فان معدل الزيادة يصبح $$\mu x = \frac{dx}{dt}$$

أى $$X = X_o . e^{\mu t}$$

ويكون معدل التغير dx / dt فى الكثافة البكتيرية بالمزرعة ، هو محصلة المعادلتين السابقتين ، أى

$$\frac{dx}{dt} = \mu x - Dx$$

وتمثل μ معدل ثابت النمو Growth constant ، وهو عدد الخلايا المتكونة فى وحدة الزمن .

وعلى ذلك فانه فى طريقة الكيموستات ، إذا ماتساوى معدل النمو μ ، مع معدل التخفيف D ، فإنه يحدث توازن بين معدل غسيل المزرعة ، وبين كمية الخلايا المكتسبة من النمو البكتيرى ، ويصبح معدل إنتاج خلايا ميكروبية جديدة بوعاء التنمية ، متوازنا Balanced مع معدل الخلايا المفقودة فى عملية الغسيل من وعاء التنمية ، وبالتالى يصبح مقدار التغير فى الكتلة الميكروبية بوعاء التنمية يساوى صفرا ، وسيظل التركيز البكتيرى بالوعاء ثابتا ، وتبقى المزرعة البكتيرية فى حالة نمو ثابت Steady state growth .

يعتمد نجاح نظام المزرعة المستمرة بالكيموستات ، على النجاح فى تنظيم معدل النمو البكتيرى μ بوعاء التنمية ، ويتأتى ذلك بالتحكم فى مكونات وتركيز مواد التفاعل ، المضافة إلى البيئة والمسحوبة منها ، وذلك بالتحكم الدقيق فى معدل التخفيف ، وهو معامل الاستبدال الحجمى لمحتويات وعاء التنمية ، وبهذا التحكم يمكن الحفاظ على توازن معدلات الانسياب Flow balance ، مابين البيئة المضافة الى وعاء التنمية ، وتلك المسحوبة من الوعاء ، ويؤدى الاتزان فى معدلات الانسياب، الى أن يعمل الكيموستات كنظام ذاتى التنظيم Self-regulatory system .

٢- النمو فى الجهاز المنظم لكثافة النمو ، التربيدوستات : Growth in turbidostat

يعتمد نجاح هذه الطريقة ، على تنظيم تركيز نمو البكتريا الموجودة بوعاء التنمية ، والمحافظة على ذلك التركيز فى حالة ثبات ، وذلك بالتحكم فى كمية وكثافة النمو البكتيرى . يقدر النمو البكتيرى الموجود بوعاء التنمية ، بطريقة التعكير ، ويحافظ على كثافة النمو ، بالمحافظة على درجة التعكير فى حالة ثابتة ، ويتم ذلك بواسطة جهاز ضوئى كهربائى ، يبين باستمرار بطريقة التعكير ، كثافة النمو البكتيرى الموجود بوعاء التنمية ، وبواسطة ذلك الجهاز يتم أيضا التحكم فى معدل تخفيف البيئة ، للحفاظ على كثافة الخلايا البكتيرية الموجودة بوعاء التنمية ، عند معدلات ثابتة ، فاذا مازادت كثافة النمو البكتيرى بوعاء التنمية ، يزداد معدل التخفيف ، وإذا ماإنخفضت كثافة النمو البكتيرى ، يقل معدل التخفيف .

نظام التربيدوستات أكثر تعقيدا عن نظام الكيموستات ، ويؤدى ذلك إلى بعض المصاعب فى التطبيق منها

* التصاق بعض خلايا المزرعة بجدار وعاء العينة ، مما يؤدى إلى استشعار خاطىء من جهاز التربيدوستات المنظم .
* تذبذب التيار الكهربائى وعدم ثباته ، يؤدى الى استشعار خاطىء بالخلايا الضوئية لجهاز التربيدوستات ، مما يسبب حدوث أخطاء فى معدل إنسياب البيئة المضافة إلى المزرعة ، أو المسحوبة منها .

الفروق الأساسية بين نظام النمو ذو الدفعة الواحدة ونظام المزرعة المستمرة
Fundamental differences

ينظر الى نظام التنمية ذو الدفعة الواحدة ، إلى أنه نظام ، منغلق على نفسه Closed system . وفى هذا النظام يتطور الميكروب النامى من الطور اللاجى ، إلى اللوغاريتمى ، إلى الثابت ، ثم إلى طور الهبوط (الموت) ، وهو مايعادل فى الانسان أطوار الطفولة ، النضج ، الشيخوخة ثم الموت ،

وفى هذا النظام المقفول ، تتغير ظروف المزرعة البكتيرية من لحظة لأخرى ، مما يصعب من حدوث عملية النمو والتطور الذاتى لخلايا المزرعة Culture automation .

بينما يمثل نظام المزرعة المستمرة ، نظاما مفتوحا Open system ، يحقق حالة نمو ثابتة Steady state growth لثبات ظروف التنمية ، مع تجنب هذا النظام المستمر لعامل الزمن وتأثيره على البكتريا النامية ، ولذلك فإنه من السهل جعل النظام المستمر ، نظام نمو وتطور ذاتى تلقائى Automated system .

٣- النمو المتزامن : Synchronous growth

تهتم بعض الدراسات الميكروبيولوجية ، بدراسة عمليات الأيض الغذائى من حيث علاقتها بأحد أطوار الانقسام الخلوى ، أو بمرحلة معينة من مراحل النمو الخلوى . وتتطلب هذه الدراسات التعامل مع عشيرة من الخلايا البكتيرية ، التى تنقسم جميعها فى وقت واحد ، أى عشيرة ذات نمو متزامن ، لأنه من الصعب التعامل أو تحليل خلية بكتيرية واحدة لصغر حجمها .

النتائج المتحصل عليها ، من تحليل مجموعة الخلايا المتزامنه النمو الموجودة بالمزرعة ، ستصبح ذات قيمة، ويمكن الاعتماد عليها ، بإعتبارها ممثلة لما يمكن أن يحدث فى البكتيرة الواحدة .

وتوجد طرقا معملية ، تعتمد على استخدام الظروف الطبيعية أو الكيميائية المؤثرة على النمو البكتيرى ، تمكننا من دفع الخلايا الموجودة بالمزرعة ، إلى النمو نموا متزامنا ، من هذه الطرق ، استخدام التغيرات الحرارية ، التنبيه بالمؤثرات الضوئية ، التحديد بالمواد المغذية ... الخ .

على سبيل المثال ، فإنه عند تلقيح الخلايا البكتيرية فى بيئة غذائية ، وتحضينها لبعض الوقت عند درجات حرارة أقل من الدرجة المثلى للنمو Suboptimal temperature ، فان الخلايا ستقوم بأيضها الغذائى ببطء ، ولكنها لن تنقسم ، فإذا ماإرتفعت درجة الحرارة إلى المثلى ، فإن الخلايا ستنمو متزامنة .

تفصل الخلايا المتزامنه النمو من المزرعة ، بالترشيح أو بالطرد المركزى ، لتستخدم بعد ذلك فى الدراسات المطلوبة .

والخلايا البكتيرية التى عوملت بإحدى المعاملات السابقة لكى تنمو نموا متزامنا ، ستعطى عددا محدودا من الأجيال المتزامنه ، ثم تعود بسرعة الى حالة النمو غير المتزامن .

طرق تقدير النمو البكتيرى (العدد والكتلة الحيوية)

Methods of estimating bacterial growth (Number & mass)

عندما تنمو البكتريا فى وسط ما ، ولتكن مثلاً مزرعة على دفعات ، فليس من الضرورى وجود علاقة بين الزيادة فى عدد الخلايا البكتيرية والزيادة فى كتلتها . فعقب تلقيح البكتريا فى البيئة ، فان بعض البكتريا تزيد فى العدد بمعدل أسرع من الزيادة فى كتلتها الحيوية ، وفى هذه الحالة ، فإن حجم الخلايا النامية يكون صغيرا ، بينما فى مرحلة متأخرة من النمو ، فإن معدل زيادة البكتريا فى كتلتها الخلوية ، يكون أسرع من معدل زيادتها فى العدد ،

وفى هذه الحالة فإن حجم الخلايا النامية يكون كبيراً ، ولذا فعلينا أن نميز بين زيادة البكتريا فى عددها ، وزيادتها فى كتلتها الخلوية .

ولاتوجد كل الخلايا البكتيرية فى المعلق فى صورة حية ، فمنها ماهو حى Viable ، ومنها ماهو غير حى Non-viable ، ومنها ماقد حدث له تلفا Damaged cells .

والخلايا الحية هى التى تنمو ، وتعطى مستعمراتاً بالبيئة الصلبة ، أو تكون معلقاً بالبيئة السائلة، بينما فى طرق تقدير العدد الكلى للخلايا ، فإن العدد الناتج يتضمن كلاً من الخلايا الحية وغير الحية والتالفة .

وفى القياسات البصرية للمعلق البكتيرى ، فإنه يجرى تقدير الكثافة البصرية Optical density للمعلق ، مما يوجب علينا ، إيجاد العلاقة التى تربط بين النفاذية الضوئية للمعلق ، وكتلته الخلوية ، أو عدد خلاياه .

ويقدر النمو البكتيرى بطرق عديدة ، تعتمد على واحدة أو أكثر من أنواع القياسات التالية

١ - عدد الخلايا Cell count

ويتم ذلك بطرق مباشرة بالمجهر ، أو بطرق غير مباشرة بعد المستعمرات .

٢ - كتلة الخلايا Cell masss

ويتم ذلك مباشرة بالوزن أو بتقدير النتروجين الخلوى ، أو بطرق غير مباشرة ، بتقدير درجة التعكير .

٣ - نشاط الخلايا Cell activity

ويتم ذلك بطرق غير مباشرة تعتمد على الربط بين درجة النشاط البيوكيميائى للخلايا وحجم المجموع البكتيرى المتواجد ، كما يحدث عند تقدير نواتج الأيض الغذائى ، وكمية O_2 المستهلك ، وكمية CO_2 المنتج ، وتكون حامض معين ... الخ .

وجدول [٦ (١)- ٢] يبين الطرق المستخدمة فى تقدير النمو البكتيرى .

وسنشير فيما يلى إلى أهم الطرق المستعملة فى تقدير النمو البكتيرى ومميزات كل طريقة ، وذلك دون الدخول فى التفصيلات العملية الخاصة بتلك الطرق .

١- العد المباشر بالمجهر : Direct microscopic count

فى هذه الطريقة يؤخذ حجم معلوم من المعلق البكتيرى ، مثل ذلك المعلق المجهز من التربة أو المياه ، وينشر المعلق البكتيرى على مساحة محددة من شريحة الفحص الزجاجية ، مثل شريحة Petroff-Hausser counting chamber ، أو شريحة بريد Breed ، ثم يثبت الغشاء ، ويصبغ ، ويفحص ، وتعد البكتريا الموجودة فى عدة مجالات ، ويحسب العدد الموجود فى ١ جم تربة جافة ، أو ١ مل عينة سائلة .

وعند عد البكتريا ببيئات تحتوى على أعداد كثيفة أو خفيفة جدا من البكتريا ، فإنه يلـــزم عمـل التخفيفات أو التركيزات المناسبة على التوالى .

تمتاز طريقة العد المباشر بالمجهر ، بأنها سريعة ، سهلة ، ولاتحتاج الى معـــدات أو تجهيزات خاصة ، كما أنها تمكن الفاحص ، من ملاحظة الشكل المورفولوجى للبكتريا الجـارى عدها تحت المجهر. غير أنه يعاب على هذه الطريقة بأنه عند استعمالها باستمرار فإنـــها تجـهد النظر ، كما أنه يصعب استخدامها لعد البكتريا النامية فى بيئات صلبة ، لتكتل البكتريا وصعوبـة فردها ، كما أنه فى بعض الأحيان ، يصعب التمييز بين المكونات الدقيقة للبيئة وبيـــن البكتريـــا الحيه والميته .

جدول ٦ (١) – ٢ : الطرق المستخدمة فى تقدير النمو البكتيرى .

الطريقـــــة	استخدامات الطريقة	التعبير عن النمو
العد المباشر بالمجهر	المياه ، الالبان ، الأغذية ، الأراضى ، اللقاحات ... الخ	عدد الخلايا / مل
العد الالكترونى	مثل السابق	عدد الخلايا / مل
العد بالأطباق	مثل السابق	الوحدات المكونه للمستعمرة / مل (Cfu/ml)
المرشحات الغشائية	مثل السابق	الوحدات المكونة للمستعمرة / مل
العد بطريقة التخفيف التقريبية	المياه والمجارى والأراضى	عدد الخلايا / مل
القياس بطريقة التعكير	المعلقات المائية ، المزارع السائلة ... الخ	مقـدار الكثافــــة البصريـــة (الامتصاص)
تقدير الوزن الجاف	المزارع الميكروبية الكثيفة النمو	مجم وزن جاف خلايا / مل
تقدير المحتوى النتروجينى	فى الأغراض البحثية	مجم نتروجين / مل
قياس النشاط البيوكيميائى للخلايـــا كإنتاج حامض	فى التقديرات الميكروبيولوجية	ملليمكافىء حامض / مل

ومن الشرائح الزجاجية ذات الاستخدامات الخاصة ، المستخدمة فى العد المباشر بالمجهر

أ - شريحة بريد : Breed slide

شريحة زجاجية تستخدم بكثرة لعد البكتريا الموجودة فى اللبن ، وفى هذه الطريقة من العد ، ينشر حجم معلوم من البيئة المراد العد فيها (عادة ٠,٠١ مل) ، بانتظام على مساحة معلومة من شريحة بريد ، ثم يثبت الغشاء ويصبغ ويفحص ، وتعد البكتريا الموجودة فى عدة مجالات بالشريحة ، وبالحساب يقدر عدد البكتريا الموجود فى ١ مل عينة .

ب - شريحة الهيموسايتومتر : Haemocytometer

تحتوى هذه الشريحة الزجاجية على غرفة عد Counting chamber ، وهى عبارة عن غرفة صغيرة مجوفة بالشريحة ، مقسمة بأبعاد معلومة الى مربعات ذات مساحات محددة . وبعد وضع تخفيف المعلق البكتيرى بالغرفة ، تغطى الشريحة ، وبعد عد البكتريا والضرب فى معامل الشريحة ، يمكن معرفة عدد الخلايا الموجودة فى ١ مل مزرعة بكتيرية .
وتستعمل هذه الشريحة فى أغراض طبية عديدة ، منها عد خلايا كرات الدم الحمراء .

٢- العد بطريقة الأطباق : Plate count method

فى هذه الطريقة تعمل تخفيفات متسلسلة من البيئة المراد عد البكتريا بها ، ثم يؤخذ ١ مل من كل تخفيف ، ويوضع فى طبق بترى تحت شروط التعقيم ، ثم تصب بيئة الآجار بالطبق ويحضن . ينمو كل ميكروب ليكون مستعمرة ، وهذه المستعمرات يمكن مشاهدتها بالعين المجردة . وبعد إنتهاء النمو ، تختار الأطباق ذات العدد المناسب من المستعمرات ، والذى يتراوح مابين ٣٠ الى ٣٠٠ مستعمرة بالطبق ، وبمعرفة عدد المستعمرات النامية بالطبق ، يمكن حساب عدد البكتريا الموجودة فى ١ مل بيئة أو ١ جم تربة جافة (حسب نوع العينة التى فحصت) .

وتعد المستعمرات النامية فى الطبق بالعين المجردة ، أو باستخدام عدسة مكبرة ، أو بأجهزة عد خاصة ، أو بعدادات الكترونية Electronic counters .

تستعمل طريقة العد بالأطباق بكثرة لتقدير عدد البكتريا ، الموجودة فى الماء واللبن والأغذية والتربة وغيرها ، وفى هذه الطريقة ، يعد عدد البكتريا الحى فقط ، أى القادر على التكاثر .
ولكن يعاب على هذه الطريقة أنها تحتاج لوقت طويل ، وإلى أجهزة وأدوات ، كما أنها تعطى عددا أقل من العدد الحقيقى ، إذ أن البيئة المستخدمة وظروف التحضين والنمو ، لاتناسب كل الأنواع البكتيرية الموجودة بالعينة الجارى فحصها ، هذا بالإضافة الى أن المستعمرة المتكونة ، قد تكون ناتجة من ميكروب واحد ، أو من كتلة من الميكروبات ، أو من سلسلة ميكروبية .
ولذلك فإنه يفضل أن يشار إلى الأعداد البكتيرية التى تم تقديرها ، باستخدم تعبير الوحدات المكونة للمستعمرات / مل Colony-forming units/ml, Cfu/ml ، بدلا من استخدام تعبير عدد البكتريا فى ١ مل عينة ، Bacterial count/ml .

٣- العد بالمرشحات الغشائية : Membrane-filter count

تصنع المرشحات الغشائية فى صورة أقراص ، من مواد متبلمرة كالكلوديون ، أو تصنع من خلات السليلوز ، وهذه المرشحات ذات ثقوب دقيقة متجانسة التوزيع ، وتستعمل المرشحات فى

وجود مضخات ، لفصل الكائنات الدقيقة الموجودة بالمحاليل المختبرة ، كما تستعمل المرشحات فى تعريف الميكروبات ، وفى عد الموجود منها بالسوائل .

تستعمل المرشحات الغشائية* التى لها سعة ثقوب حوالى ٠,٤٥ ميكرومتر ، لحجز البكتريا الموجودة بحجم معين من السائل ، على سطح المرشح الغشائى ، ثم تنمى البكتريا المحجوزة على المرشح ، بوضع المرشح بما عليه من بكتريا ، على بيئة مناسبة ، وبعد التحضين يقدر عدد البكتريا النامية ، ويحسب عددها الموجود فى ١ مل عينة .

ويعتمد نجاح طريقة المرشحات الغشائية* ، على استعمال بيئات النمو المناسبة ، التى تسمح بِعَد وتعريف المستعمرات البكتيرية النامية .

وتمتاز طريقة العد بالمرشحات الغشائية ، بسرعة إجرائها ، وبسهولة عد البكتريا مع إمكانية التمييز بين أنواعها باستخدام البيئات المناسبة ، كما يمكن بواسطة هذه الطريقة عد كميات كبيرة من عينات المياه أو السوائل بسهولة ، وبالتالى فانها تعطى نتائج أكثر تمثيلاً .

٤- العد بطريقة التخفيف التقريبية : Dilution frequency method

وتعرف هذه الطريقة أيضا باسم طريقة العدد الأكثر إحتمالا Most probable number method, MPN . وفى طريقة التخفيف التقريبية ، تجرى عدة تخفيفات متسلسلة من المزرعة المراد عد البكتريا بها ، ثم يؤخذ ١ مل من كل تخفيف لتلقيح أنابيب بيئة سائلة مناسبة ، مع عمل مايلزم من مكررات ، وبعد تحضين الأنابيب الملقحة ومكرراتها ، يقدر عدد الأنابيب الموجبة للنمو فى ثلاث تخفيفات متتالية ، ومن جداول خاصة ، تعرف بجداول الأعداد الأكثر إحتمالا Most probable number tables ، يقدر عدد البكتريا الموجودة فى ١ مل عينة .

تستخدم هذه الطريقة فى فحص عينات المياه والمجارى والأراضى ، وفيها يتم نمو البكتريا الحية فقط الموجودة بالعينة .

وتحتاج هذه الطريقة إلى وقت طويل ، وأدوات وأنابيب كثيرة ، وتعطى نتائج تقريبية .

٥- تقدير الوزن الجاف للخلايا : Determination of dry weight of cells

فى هذه الطريقة ، يؤخذ جزء من المزرعة المراد تقدير كمية النمو بها ، ثم تفصل خلايا المزرعة بترسيبها بالطرد المركزى ، ثم تجفف الخلايا على درجة ١٠٥°م لمدة ١٢ ساعة ، وتبرد ، وتوزن ، ويقدر الوزن الجاف للخلايا .

تتميز هذه الطريقة بسرعة إجرائها ، وببساطتها ، ولكن يعاب عليها أنها تقدر الوزن الجاف لكل من الخلايا الحية والميتة الموجودة بالعينة .

ولاتصلح هذه الطريقة إلا مع المعلقات البكتيرية الكثيفة النمو ، كما أن الخلايا المفصولة من المعلق يجب غسلها عدة مرات ، قبل تجفيفها ووزنها ، لازالة كل مايعلق بها من مواد خارجية.

وفى طريقة التقدير بالوزن الجاف ، فانه لايمكن الربط بين وزن الخلايا البكتيرية وعددها ، مثالاً على ذلك ، فان بكتريا الأزوتوباكتر فى المراحل المتأخرة من النمو ، أى فى

---

* أنظر ص ٦٤ .

نهاية الطور اللوغاريتمى وأثناء الطور الثابت ، تزداد محتوياتها الداخلية ، خاصة من مادة البولى هيدروكسى بيوتيرات ، عدة مرات ، دون أن يقابل تلك الزيادة فى الكتلة الخلوية ، مايتكافأ معها من زيادة فى عدد الخلايا البكتيرية .

٦- تقدير المحتوى النتروجينى للخلايا :

Determination of nitrogen content of cells

يعتبر البروتين من أهم مكونات الخلية البكتيرية ، ويشكل النتروجين أهم عناصر البروتين ، ومن الطبيعى فإن كمية النتروجين الخلوى للبكتريا الموجودة بالمزرعة ، ستكون متكافئة مع عدد وحجم خلايا المزرعة . وفى أغلب أنواع البكتريا ، فإن نسبة النتروجين بالبروتين البكتيرى ، تكون حوالى ١٤% من الوزن الجاف للخلية ، وإن كان ذلك يتغير حسب النوع البكتيرى وظروف البيئة .

وفى طريقة تقدير النتروجين الخلوى ، كدلالة على النمو البكتيرى ، يؤخذ جزء من المزرعة البكتيرية المراد تقدير كمية النمو بها ، ثم تفصل الخلايا من المزرعة بترسيبها بالطرد المركزى ، وتغسل الخلايا عدة مرات لتخليصها تماما مما حولها من عناصر البيئة الغذائية ، ثم يقدر كمية النتروجين الكلى بالخلايا كيميائيا بطريقة ميكروكلداهل micro Kjeldahl ، أو بطرق بصرية لونية مثل طرق Lowry, or, Folin-Ciocalteu methods .

وتتشابه عيوب طريقة تقدير المحتوى النتروجينى ، مع عيوب طريقة التقدير بالوزن الجاف . ففى طريقة تقدير المحتوى النتروجينى للخلايا ، يقدر نتروجين كل من الخلايا البكتيرية الحية والميته ، الموجودة بالعينة ، كما أن الطريقة لايمكن إجراؤها إلا مع المزارع الكثيفة النمو المغسولة جيدا ، الخالية من أى مصدر نتروجينى غير الخلايا البكتيرية . هذا بالإضافة إلى أن طريقة التقدير النتروجينى للخلايا ، طريقة معقدة ، ولذلك فإنها تستعمل عادة فى الأغراض البحثية .

٧ - تقدير النمو البكتيرى باستخدام القياسات البصرية :

Optical methods for estimating bacterial growth

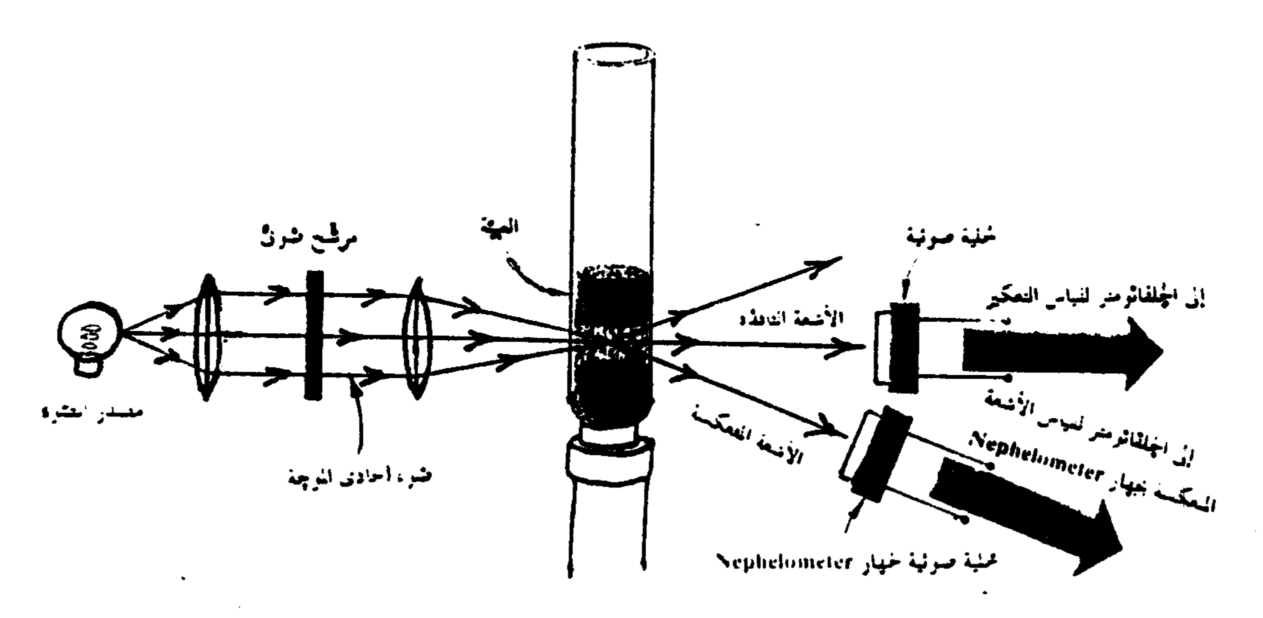
تعمل المزرعة البكتيرية كمعلق غروى ، يحجب ويعكس الضوء المار من خلاله ، فالضوء الذى يمتص Absorbed ، أو ينعكس Reflected بواسطة معلق الخلايا ، يتناسب طرديا مع تركيز الخلايا الموجود بالمعلق ، وبمعنى آخر فإن كمية الأشعة النافذة Transmitted من المعلق تتناسب عكسيا مع تركيز الخلايا التى بالمعلق ، أى أنه كلما زاد تعكير البيئة نتيجة زيادة النمو البكتيرى ، كلما قلت قراءة جهاز قياس التعكير .

ومن هذه القياسات التى يمكن الحصول عليها بواسطة أجهزة القياسات البصرية ، يمكن تقدير عدد الخلايا الموجودة فى المعلق البكتيرى .

ويستعمل فى أجهزة القياس البصرية ، وحدة ضوئية حساسة Photometric cell متصلة بجلفانوميتر ، لقياس الضوء المار ، وهى توجد فى أجهزة مثل :

جهاز قياس الألوان Colorimeter ، وجهاز قياس عكارة المحلول Nephelometer ، وجهاز قياس الطيف الضوئى Spectrophotometer ، وجهاز قياس التعكير Turbidimeter .

وتعتبر أجهزة القياس البصرية ، مصدرا للضوء الأحادى الطول الموجى Single wavelength ، ويتوفر ذلك بوضع مرشح ضوئى مناسب بالجهاز ، بين مصدر الضوء والعينة ، ليخرج الضوء من المرشح الضوئى بالطول الموجى الأحادى المرغوب فيه ، ويسقط بعد ذلك على العينة [شكل ٦ (١) - ٧] . وعند تشغيل الجهاز ، يوضع به المرشح الضوئى المناسب ، الذى يسمح للمعلق البكتيرى الجارى فحصه ، بأن يمتص أكبر كمية من الضوء النافذ من المرشح .



شكل ٦ (١) - ٧ : رسم تخطيطى لجهاز قياس الألوان الضوئى الذى يمكن أن يستعمل كجهاز لقياس التعكير أو كجهاز لقياس الأشعة المنعكسة .

وباستخدام جهاز القياس البصرى المناسب ، لقياس نسبة الأشعة الممتصة ، فإنه يمكن تقدير عدد الخلايا الموجودة بالمعلق البكتيرى . وتتم معظم التقديرات باستخدام جهاز قياس التعكير Turbidimeter لقياس الأشعة النافذة ، ونادرا مايستخدم جهاز النفيلومتر Nephelometer لقياس الأشعة المنعكسة .

وتقدر درجة تعكير المعلقات البكتيرية غير الملونة على موجة ضوئية طولها ٤٢٠ نانومتر ، وعلى موجه ضوئية طولها ٦٠٠ نانومتر للمعلقات البكتيرية ذات اللون الأصفر أو المائل إلى اللون البنى .

وفى طرق قياس التعكير ، يمكن أن يعبر عن قدرة المعلق البكتيرى على حجب الضوء ، بنسبة الضوء النافذ Transmitted ، وهذا يتناسب عكسيا مع تركيز الخلايا بالمعلق ، غير أنه من الأفضل أن يعبر عن التعكير كامتصاص Absorbance ، وهذا يتناسب طرديا مع تركيز الخلايا بالمعلق .

تُقيِّم النتائج المتحصل عليها من القياسات البصرية ، بطرق العد الأخرى المعروفة ، إذ أن درجة تعكير المعلق البكتيرى ، ترتبط بتقديرات أخرى معلومة للنمو البكتيرى مثل العدد بطريقة الأطباق .

كما أنه للسرعة فى استخلاص النتائج ، تعمل منحنيات قياسية Standard curves ، تربط بين القراءات المأخوذة بأجهزة القياسات البصرية ، والبيانات الأخرى المطلوب معرفتها ، مثل عدد الخلايا ، والوزن الجاف ، والمحتوى النتروجينى ... الخ .

وتعتبر طرق القياسات البصرية ، من الطرق الكثيرة الاستعمال لتقدير النمو البكتيرى، لسرعتها ودقتها ، إلا أنه يعاب عليها أنها تقدر الخلايا الحية والميتة معا ، ولايمكن استعمالها فى المعلقات الملونة بدرجة كبيرة ، أو التى تحتوى على مواد أخرى عالقة غير الخلايا البكتيرية .

﴿الباب السادس – الفصل الثانى﴾

تغذية وزراعة البكتريا

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة

﴿الباب السادس - الفصل الثانى﴾

تغذية وزراعة البكتريا
Nutrition and Cultivation of Bacteria

مقدمــة

لاتختلف البكتريا عن غيرها من الكائنات الحية فى إحتياجها للغذاء ، فبدونه لايمكنــــها أن تنمو أو تقوم بوظائفها الحيوية ، حيث يستخدم الغذاء فى بناء الخلايا ، وفى الحصول علــى الطاقة اللازمة لمختلف الوظائف الحيوية .

وتختلف البكتريا فى إحتياجاتها الغذائية بدرجة كبيرة بــإختلاف أنواعــها ، فبعضــها يحصل على مايلزمه من عناصر غذائية من مواد بسيطة مثل النبات ، مع حصوله على الطاقــة من التمثيل الضوئى أو من أكسدة المواد الكيميائية البسيطة ، والبعض الأخر من البكتريا حيــث يمثل الأغلبية ، يحصل على المواد الغذائية والطاقة من مواد عضوية مثل الحيوان .

وتحصل البكتريا على المواد الغذائية بالانتشار الغشائى ، مما يتطلب ضرورة تواجــد المواد الغذائية فى البيئة فى صورة ذائبة ، حتــى تمــر تلــك المــواد خــلال غشــاء الخليــة السيتوبلازمى إلى السيتوبلازم ، ولذلك فإنه فى حالة البكتريا التى تتغذى على مــواد عضويــة معقدة مثل السليلوز أو النشا أو الدهون أو البروتين ، فإنه لابد لــها مــن أن تفــرز إنزيمــات خارجية ، تخرج من الخلية إلى الوسط المحيط بها ، وتحول المواد المعقدة الموجودة بالوســط ، إلى الحالة الذائبة القابلة للإمتصاص .

يتم إستزراع البكتريا وفحصها ، بتنميتها فى بيئات غذائية مناسبة ، وبسبب الإختلافات الكبيرة القائمة بين أنواع البكتريا المختلفة ، فى إحتياجاتها الغذائية وفى ظروف نموهــا ، فإنــه يستخدم فى التنمية بيئات غذائية متعددة ، كل منها يناسب فى تركيبه تنمية نوع بكتيرى معين ، على أن يراعى عند التنمية ، توفير الظروف البيئية المناسبة للنمو ، مــن حــرارة ، وق يــد ، ووسط غازى ... الخ .

الاحتياجات الغذائية : Nutritional requirements

لاتختلف الاحتياجات الغذائية للخلايا البكتيرية عن إحتياجات الكائنات الحية الأخــرى ، وأهم الاحتياجات هى الأكسجين والايدروجين والكربــون والنــتروجين والعنــاصر المعدنيــة (Ca , Mg , P, K, S , Fe) .

والملاحظات التالية توضح ذلك ، ويبين [جدول ٦ (٢) - ١] الاختلافات الواسعة الموجودة بين أنواع البكتريا المختلفة ، من حيث إحتياجاتها الغذائية .

جدول ٦ (٢) - ١ : مصادر الطاقة والكربون ومانح الالكترونات لبعض أنواع البكتريا .

البكتريا	مصدر الطاقة		مانح الالكترونات		كربون الايض	
	ضوئى	كيميائى	معدنى	عضوى	معدنى (ذاتى)	عضوى (خليط)
Chromatium	+		+		+	
Rhodospirillum						
تحت ظروف لاهوائية	+			+		+
تحت ظروف هوائية		+		+		+
Nitrosomonas		+	+		+	
Desulfovibrio		+	+			+
Pseudomonas						
فى وجود H_2		+	+		+	
فى عدم وجود H_2		+		+		+
Escherichia coli		+		+		+

١ - تحتاج جميع الكائنات إلى مصدر للطاقة Source of energy، حتى تقوم بأنشطتها المختلفة.

وتختلف البكتريا من حيث مصدر طاقتها

* فبعضها يعتمد على المواد الكيميائية كمصدر للطاقة ، وتسمى بكائنات كيميائية الطاقة Chemotrophs .

* وبعضها يمكنه أن يستخدم الضوء كمصدر للطاقة ويسمى بكائنات ضوئية الطاقة Phototrophs [جدول ٦ (٢) - ١] .

٢ - تحتاج جميع الكائنات الى مصدر للإلكترونات Soure of electrons ، حتى تقوم بأيضها الغذائى .

وتختلف البكتريا من حيث مصدر الإلكترونات

* فبعضها يستطيع استخدام المركبات المختزلة غير العضوية كمانحات للإلكترونات ، تسمى كائنات معدنية التغذية Lithotrophs ، وهذه منها مايستخدم الضوء كمصدر للطاقة ، وتسمى كائنات معدنية التغذية ضوئية الطاقة Photolithotrophs .

* وبعضها يستطيع استخدام المركبات العضوية كمانحات للالكترونات وتسمى كائنات عضوية التغذية Organotrophs ، وهذه منها ماهو عضوى التغذية ضوئى الطاقة

Photoorganotrophs ، ومنها ماهو عضوى التغذية كيميائى الطاقة Chemoorganotrophs . [جدول ٦ (٢) - ١] .

٣- تحتاج جميع الكائنات إلى **مصدر كربونى** Carbon source ، لتخليق مكونات الخلية .

* **ومن حيث البكتريا** فبعضها يستطيع استخدام CO_2 الجو أو CO_3 الكربونات ، كمصدر وحيد للكربون ، وتسمى هذه الكائنات بذاتية التغذية Autotrophs .
* والبعض يستطيع استخدام مصادر الكربون العضوية ، وتسمى هذه الكائنات بخليطة التغذية Heterotrophs [جدول ٦ (٢) - ١] .

ويعتبر النشا والسليلوز من مصادر السكريات العديدة الموجودة بالتربة ، والوحدة الأساسية لهذه المركبات هى الجلوكوز ، وهذا يمكن تمثيله بواسطة العديد من الميكروبات .

* وتحتاج البكتريا خليطة التغذية المتطفلة ، التى توجد فى الدم أو الأنسجة ، الى أن تحضن فى جو يحتوى على حوالى ١٠% CO_2 ، لأن هذه البكتريا أثناء حياتها التطفلية ، تأقلمت على الحياة فى وسط به محتوى عالى من CO_2 .

٤- تحتاج جميع الكائنات الى **مصدر نتروجينى** Source of nitrogen ، لبناء مكونات الخلية

ومن حيث البكتريا ، فإن مصادرها النتروجينية متعددة

* فبعضها يستطيع استخدام نتروجين الهواء الجوى .
* وبعضها يستطيع استخدام النتروجين غير العضوى ، مثل أملاح الأمونيا ، والنتريت ، والنترات .
* وبعضها يستطيع استخدام النتروجين العضوى مثل الأحماض الأمينية والببتيدات .

ويوجد معظم النتروجين فى الخلية البكتيرية فى صورة مختزلة ، تعرف بمجموعة الأمين Amino group .

٥ - تحتاج جميع الكائنات الى **الأكسجين والكبريت والفوسفور**

* **ومن حيث الأكسجين** ، فإن البكتريا تستمده من مصادر متعددة ، منها الهواء الجوى . والماء ، وكذلك من مكونات مواد البيئة الغذائية .
وفى التنفس الهوائى ، فإن الاكسجين يعمل كمستقبل نهائى للالكترونات ، حيث يختزل الاكسجين إلى ماء (راجع تأثير العوامل الطبيعية والبيئية - الأكسجين بالباب الرابع ، الفصل الثانى) .
* **ومن حيث الكبريت** ، فإن البكتريا تستمده من مواد كبريتية عضوية مثل السستئين ، أو من مواد كبريتية غير عضوية مثل الكبريتات ، أو من عنصر الكبريت ، أو كبريتيد الايدروجين .

وتحتاج البكتريا الى الكبريت لتخليق الأحماض الأمينية الكبريتية ، مثل السستين والسستئين والمثيونين .

ويوجد معظم الكبريت بالخلية البكتيرية في صورة مختزلة ، تعرف بمجموعة السلفيدريل Sulfhydryl .

- **ومن حيث الفوسفور ، فإن البكتريا غالبا ماتأخذه فى صورة فوسفات .**

والفوسفور مكون أساسى فى الخلية ، حيث يدخل فى تكوين النيوكليوتيدات والأحماض النووية والفوسفوليبيدات وحامض التيكوييك Teichoic ، ومواد أخرى .

٦ - تحتاج جميع الكائنات إلى **أيونات المعادن** لاستكمال نموها .

من هذه المعادن ، مثل K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+} & Fe^{2+} ، مايستخدم بكميات كبيرة نسبيا لتغطية احتياجات النمو ،

ومنها مثل $B^{3+}, Co^{2+}, Cu^{2+}, Mn^{2+}, Mo^{6+}, Ni^{2+}$ & Zn^{2+} مايستخدم بكميات قليلة كقرائن انزيمية ، وتسمى عناصر نادرة Trace elements أو مواد مشجعة للنمو .

ومعظم العناصر النادرة توجد كشوائب فى أملاح العناصر الكبرى ، وتصل الى البيئة الغذائية من الأوعية الزجاجية وحبيبات التربة .

ولاتحتاج أغلب أنواع البكتريا الى أيون الصوديوم Na^+ ، ولكن بعض أنواع السيانوبكتريا والبكتريا البحرية تحتاج إلى وجود الصوديوم ، كما أن البكتريا المحبة للملوحة المرتفعة ، لاتنمو فى وسط تقل به نسبة كلوريد الصوديوم عن ١٥% ، حيث يعمل الصوديوم على المحافظة على تكامل الخلية ، وعلى ثباتها ، والمحافظة على أنشطة إنزيماتها .

٧ - تحتاج جميع الكائنات إلى **الفيتامينات** والمركبات الشبيهة بالفيتامينات Vitamin-like compounds ، وتعمل هذه المواد كمرافقات إنزيمية .

تستطيع بعض أنواع البكتريا تخليق ماتحتاجه من فيتامينات ، والكن البعض الآخر لايستطيع ذلك ، ولذلك يجب أن تزود البيئة النامي بها الميكروب ، بما يحتاجه من فيتامينات حتى لايتوقف عن النمو [جدول ٦ (٢) - ٢] .

كما أن بعض أنواع البكتريا مثل اللاكتوباسلس تحتاج الى توفر فيتامينات معينة فى بيئة نموها ، وتسمى مثل هذه الأنواع بكائنات نَيِّقة Fastidious organisms .

٨- **تحتاج جميع الكائنات إلى الماء**

وفى حالة البكتريا فان وجود الماء فى وسط النمو يعتبر ضروريا ، حيث يعمل الماء على إذابة مواد الغذاء ، لتصبح فى صورة محاليل مائية ، تستطيع أن تمر من غشاء الخلية بالانتشار الغشائى الى داخل الخلية ، كما يقوم الماء بحمل المواد التالفة من داخل الخلية الى خارجها ، ويعمل الماء على المحافظة على رطوبة البروتوبلازم ، موفرا بذلك وسطا

مناسبا بالخلية تتم به تفاعلات الأيض المختلفة ، كما أن الماء عنصر تفاعل ضرورى فى تفاعلات التحلل المائى التى تتم بالخلية .

إضافة الى ذلك ، فإن الحرارة النوعية المرتفعة للماء ، تحمى الخلية البكتيرية من الضرر الذى قد يصيبها ، من التغيرات الفجائية التى تحدث فى حرارة الوسط المحيط بها .

جدول ٦ (٢) – ٢ : فيتامينات تحتاجها بعض أنواع البكتريا .

نوع الفيتامين	البكتريا المحتاجه للفيتامين
ثيامين (ب١)	*Bacillus anthracis* ....
رايبوفلافين (ب٢)	*Clostridium tetani* ....
نياسين	*Brucella abortus* ....
بيريدوكسين (ب٦)	*Lactobacillus* spp. ....
بيوتين	*Leuconostoc mesenteroides* ...
حامض بانتوثنيك	*Morganella morganii* ....
حامض فوليك	*Leuconostoc dextranicum* .....
كوبالامين (ب١٢)	*Lactobacillus* sp. ....
فيتامين K	*Bacteroides melaninogenicus*

الأنماط الغذائية للبكتريا : Nutritional types of bacteria

لاحظنا مما سبق أن الأنواع البكتيرية تختلف فيما بينها ، من حيث مصادر طاقتها ومصادر إحتياجاتها الغذائية المختلفة ، مما يجعل لكل مجموعة بكتيرية نمطا غذائيا معينا تسلكه فى معيشتها ، وعلى أساس مصدر الطاقة ، ومصدر الكربون ، والمواد المانحة للايدروجين ، فانه يمكن أن نوجز الأنماط الغذائية للأنواع البكتيرية فيما يلى

أولاً : بكتريا ضوئية الطاقة : Phototrophs

تحصل هذه البكتريا على طاقتها من الضوء

- من هذه البكتريا ، أنواع تستخدم المركبات المختزلة غير العضوية كمصدر للالكترونات ، وتسمى بكائنات معدنية التغذية ضوئية الطاقة **Photolithotrophs** ، مثالا على ذلك ، بكتريا *Chromatium okenii* ، التى تستخدم H_2S كمانح للالكترونات ، مؤكسدة اياه إلى عنصر الكبريت[أنظر جدول ٦ (٢) – ١] .

$$H_2S \longrightarrow S + 2H^+ + 2e^-$$

ومن البكتريا الضوئية مايستطيع استخدام المركبات العضوية مثل الأحماض الدهنية والكحولات كمصدر للالكترونات ، وتسمى بكائنات عضوية التغذية ضوئية الطاقة **Photoorganotrophs** ، مثالا على ذلك بكتريا *Rhodospirillum rubrum* ، التى تستخدم السكسينات كمانح للالكترونات

$$\textbf{Succinate} \longrightarrow \textbf{Fumarate} + 2H^+ + 2e^-$$

- بعض أنواع البكتريا ، مثل البكتريا السابقة *Rhodospirillum rubrum* ، تستطيع أن تكون إختيارية من حيث مصدر طاقتها .

ففى غياب الأكسجين ، أى تحت الظروف اللاهوائية ، فإنها تعتمد على الضوء كمصدر لطاقتها ، وتصبح عضوية التغذية ضوئية الطاقة **Photoorganotrophs** ، بينما فى وجود الأكسجين ، أى تحت الظروف الهوائية ، فإنها تستطيع أن تنمو فى الظلام وتعتمد على المواد الكيميائية كمصدر لطاقتها ، وتصبح عضوية التغذية كيميائية الطاقة **Chemoorganotroph** [أنظر جدول ٦ (١) - ١] .

ويلاحظ أن البكتريا الضوئية تضم مجموعتين كبيرتين

أ - مجموعة البكتريا اللاهوائية غير المنتجة للأكسجين **Anaerobic anoxygenic phototrophs** .

وهذه البكتريا الممثلة للضوء ، لاتنتج أكسجينا أثناء تمثيلها الضوئى ، ومثلها البكتريا الأرجوانية ، وبكتريا الكبريت الخضراء .

ب - مجموعة البكتريا الهوائية المنتجة للأكسجين **Aerobic oxygenic bacteria** ، وهذه البكتريا الممثلة للضوء ، تنتج أكسجينا مثل النباتات ، أثناء تمثيلها الضوئى ، ومثلها السيانوبكتريا .

ثانيا : بكتريا كيميائية الطاقة : Chemotrophs

تكتسب هذه البكتريا طاقتها عن طريق تفاعلات الأكسدة والاختزال للمواد الغذائية ، بصرف النظر عن وسيلة الحصول على الطاقة سواء من التنفس أو من التخمر .

- من البكتريا كيميائية الطاقة مايستخدم المركبات غير العضوية كمصدر للالكترونات ، وتمتاز هذه البكتريا بقابليتها لاستخدام مانحات الالكترونات ومانحات الايدروجين غير العضوى مثل $NH^-_4, H_2, H_2S, S, , Fe^{2+}$ ، وتسمى هذه البكتريا بكائنات معدنية التغذية كيميائية الطاقة **Chemolithotrophs** ، مثالا على ذلك بكتريا *Nitrosomonas* التى تستخدم الأمونيا كمصدر للإلكترونات ، وتحصل على طاقتها من أكسدة الأمونيا إلى نتريت

$$2NH_3 + 3O_2 \longrightarrow 2HNO_2 + 2H_2O + \text{energy}$$

وبكتريا *Nitrobacter* التى تؤكسد النتريت إلى نترات وبذلك تحصل على طاقتها

$$2HNO_2 + O_2 \longrightarrow 2\ HNO_3 + \text{energy}$$

- ومن البكتريا كيميائية الطاقة ، مايستطيع استخدام المواد العضوية كالسكريات والأحماض الأمينية كمانحات للالكترونات ، وتمتاز هذه البكتريا بقابليتها لاستخدام مانحات الايدروجين العضوية ، وتسمى بكائنات عضوية التغذية كيميائية الطاقة **Chemoorganotrophs** ، وأغلب أنواع البكتريا تتبع هذه المجموعة .
- ومن البكتريا كيميائية الطاقة ، مايستطيع استخدام مادة عضوية كالجلوكوز ، أو مادة غير عضوية كالايدروجين كمصدر للإلكترونات ، والمثال على ذلك بكتريا *Pseudomonas pseudoflava* ، وهى بكتريا متنوعة التغذية ، حيث تستطيع أن تقوم بأى من التفاعلين الآتيين ، حسب ظروف نموها

1) $C_6H_{12}O_6 + 6\ H_2O \longrightarrow 6\ CO_2 + 24\ H^+ + 24e^-$

2) $H_2 \longrightarrow 2\ H^+ + 2e^-$

ثالثاً : البكتريا ذاتية التغذية وخليطة التغذية : Autotrophs and Heterotrophs

تشير مصطلحات ذاتية التغذية Autotrophs ، وخليطة التغذية Heterotrophs إلى مصدر الكربون اللازم لبناء الخلية البكتيرية .

فتعتبر البكتريا ذاتية التغذية ، عندما يكون مصدر كربونها الوحيد هو CO_2 الجو ، حيث تحصل على مايلزم لبناء كربونها الخلوى من تمثيل ثانى أكسيد الكربون الجوى .

مثالاً على البكتريا ذاتية التغذية ، بكتريا *Nitrosomonas* ، فهذه البكتريا كما ذكر سابقا ، بكتريا معدنية التغذية كيميائية الطاقة Chemolithotrophs ، تحصل على طاقتها من أكسدة الأمونيا إلى نتريت ، وتستفيد من الطاقة الناتجة ، فى تمثيل ثانى أكسيد كربون الهواء الجوى وتثبيته CO_2-fixation لبناء مكوناتها الخلوية .

$$CO_2 + 4\ e^- + 4H^+ \longrightarrow (HCHO) + H_2O$$

ويمثل الرمز **(HCHO)** ، المواد الكربوهيدراتية المتكونة بالخلية .

وتعتبر **البكتريا خليطة التغذية** ، إذا ماحصلت على مايلزم لبناء كربونها الخلوى عن طريق تمثيل المركبات العضوية ، ويتبع البكتريا خليطة التغذية ، أغلب أنواع البكتريا ، وهى تعتبر عضوية التغذية كيميائية الطاقة Chemoorganotrophs .

البكتريا متنوعة التغذية : Mixotrophs

بعض أنواع البكتريا معدنية التغذية كيميائية الطاقة ، تجمع فى صفاتها مابين ذاتية التغذية وخليطة التغذية ، وتسمى بكتريا متنوعة التغذية Mixotrophs ، فهى تعتبر ذاتية

التغذية من حيث حصولها على الطاقة باستخدام المركبات غير العضوية كمانحات للإلكترونات، وتعتبر خليطة التغذية من حيث حصولها على مايلزم لها من كربون من مركبات عضوية .

من الأمثلة على ذلك بكتريا *Desulfovibrio desulfuricans* ، التي تحصل على الالكترونات من H_2 ، وتحصل على الكربون من المركبات العضوية الموجودة بالبيئة .

ومن الأمثلة الأخرى بكتريا *Pseudomonas pseudoflava* ، فهى تعتبر متنوعة التغذية من حيث مصدر الكربون ، إذ تعتبر ذاتية التغذية عندما تحصل على الكربون من CO_2 الجو عند توفر مانح للالكترونات غير عضوى مثل H_2 ، وتعتبر تلك البكتريا خليطة التغذية عندما تستخدم الجلوكوز كمصدر للكربون والالكترونات .

رابعاً : البكتريا المتطفلة إجباراً : Strict parasites

يمثل التطفل نمط غذائى لبعض أنواع الكائنات ومنها البكتريا . وهذه الأنواع البكتيرية لم يمكن تنميتها فى البيئات الصناعية ، لأن إحتياجاتها الغذائية والبيئية غير محددة تماما حتى الان ، ولذلك فإن هذه الأنواع البكتيرية لاتنمو إلا فى خلايا وأنسجة العائل الحى ، وتسمى إجبارية التطفل .

وأمثلة لهذا النمط الغذائى بكتريا الجذام *Mycobacterium leprae* ، التى لاتنمو إلا إذا زرعت فى خلايا فأر Mouse ، وكذلك بكتريا الكلاميديا والريكتسيا التى لاتنمو إلا إذا زرعت فى بيضة ، نامى بها جنين كتكوت .

ومن البكتريا المتطفلة على بكتريا أخرى ، البكتريا الواوية *Bdellovibrio bacteriovorus* ، التى تتطفل على خلايا البكتريا الأخرى ، الأكبر حجما السالبة لصبغة جرام ، مثل *E. coli, Proteus & Rhizobium* .

البيئات المزرعية : Culture media

البيئات المزرعية ، عبارة عن تحضير غذائى ، قد يكون صلبا أو نصف صلب أو سائلا ، تستعمل لزراعة الميكروبات وفحصها ، فالبيئة الغذائية Medium (وجمعها Media) ؛ وسط يتم إعداده معمليا ، لتوفير ظروف طبيعية وكيميائية مناسبة بقدر الإمكان لتنمية الميكروبات .

وباستثناء بعض الدراسات الإيكولوجية ، التي يتم فيها دراسة البكتريا فى مواقعها الطبيعية ، فإن البكتريا عادة ماتزرع وتفحص تحت الظروف المعملية ، باستخدام البيئات المناسبة . ونظرا لأن الإحتياجات الغذائية للبكتريا متباينة ، فإن التركيب الكيميائى للبيئات المستعملة معمليا ، يكون أيضا متباينا ، ويختلف كثيرا من مجموعة بكتيرية لأخرى .

وبالإضافة الى ذلك ، فإن العوامل الفيزيائية المناسبة للنمو ، مثل الحرارة ، وتركيز أيون الايدروجين ، والوسط الغازى ... الخ ، تختلف باختلاف الأنواع البكتيرية ، لذلك فإن الزراعة الناجحة للبكتريا ، تتطلب الإحاطة الواعية بكل تلك العوامل .

المكونات الشائعة الإستخدام فى عمل البيئة

الماء

تحتاج جميع الكائنات الحية إلى الماء ، وفى حالة البكتريا كما ذكر سابقاً ، فإن جميع العناصر الغذائية بالبيئة ، يجب أن تكون فى محاليل مائية قبل دخولها إلى الخلية ، فالبكتريا تتغذى بالإنتشار الغذائى ، والماء ضرورى ليذيب المواد الغذائية اللازمة للخلية ، وليحمل المواد التالفة خارج الخلية ، والماء ضرورى أيضا للمحافظة على رطوبة البروتوبلازم ليوفر وسطا مناسبا لتفاعلات الايض الغذائى المختلفة بالخلية ، كما يعتبر الماء مادة تفاعل مطلوبة فى تفاعلات التحلل المائى بالخلية .

الببتون : Peptone

الببتون ، ناتج وسطى من نواتج التحلل المائى للمواد البروتينية (كاللحم والكازين) ، بواسطة الانزيمات أو الأحماض . وباستمرار عملية التحلل المائى ، فإن جزىء البروتين الكبير يتجزأ تدريجيا الى وحدات أصغر فأصغر ، هى بالترتيب : بروتيوز ، ببتون ، ببتيدات وأخيرا أحماض أمينية .

ويحتوى الببتون التجارى المستعمل فى الأعمال الميكروبيولوجية ، على خليط من النواتج الوسطية لتحلل البروتينات ، والتى تختلف فى نسبتها باختلاف نوع البروتين المستعمل ، وطريقة الهضم .

وتعود أهمية الببتون الأساسية فى البيئة ، إلى كونه مصدرا للنتروجين العضوى ، وقد يحتوى أيضا على بعض الفيتامينات والكربوهيدرات وذلك حسب نوع البروتين المهضوم ، كما أنه يعتبر عاملا منظما للحموضة بالبيئة ، بسبب خواصه الأمفوتيرية .

مستخلص اللحم : Meat extract

مستخلص اللحم ، عبارة عن مستخلص مائى ، مركز فى شكل عجينة ، لأنسجة اللحم البقرى الأحمر . يحتوى المستخلص على المواد القابلة للذوبان فى الماء الموجودة فى أنسجة الحيوان ، ويشمل ذلك مركبات النتروجين العضوى ، والكربوهيدرات ، والأحماض العضوية والفيتامينات ، والأملاح المعدنية . ولذلك فانه يعتبر مصدرا غذائيا هاما فى البيئة ، للبكتريا غير ذاتية التغذية .

مستخلص الخميرة : Yeast extract

مستخلص الخميرة ، عبارة عن مستخلص مائى لخلايا الخميرة ، ويوجد تجاريا فى شكل مسحوق . وهو يعتبر مصدرا غنيا لمجموعة فيتامين ب ، بالإضافة الى أنه يحتوى علىأحماض عضوية ومركبات كربونية .

الجيلاتين : Gelatin

الجيلاتين ، مادة بروتينية ، يحضر بالتحلل المائى لمادة الكولاجين Collagen بواسطة الماء المغلى . ويوجد الجيلاتين فى الحالة السائلة عند درجة أعلى من ٢٥°م ، ويتصلب عند درجة حرارة أقل من ذلك .
يهاجم الجيلاتين بواسطة ميكروبات عديدة ، لذلك فانه لايستعمل بالبيئة كعامل تصليب ، ولكن يستعمل لاختبار قدرة بعض البكتريا على تحلله (إسالته) ، ويضاف الجيلاتين للبيئة بتركيز ١٢-١٥% .

الآجار : Agar

يستخلص الأجار تجاريا من بعض أنواع الطحالب البحرية الحمراء ، مثل تلك التابعة لجنس *Gelidium* ، وتوجد هذه الطحالب بكثرة على سواحل الصين واليابان وكاليفورنيا .
والأجار عبارة عن مادة عضوية معقدة ، هى خليط من الأجاروز Agarose والاجاروبكتين Agaropectin .
ويتكون الأجاروز من وحدات من 3-6 anhydrogalactose & D-galactose ، مرتبطة مع بعضها فى سلاسل طولية ، بروابط متبادلة من النوع بيتا ١-٣ ، وبيتا ١-٤ .
ويتكون الأجاروبكتين من الوحدات السابقة ، مكونة لروابط استر مع حامض الكبريتيك وأحماض اليورونيك .
ويمتاز الأجار بانه يسيل عند درجة ٨٠ - ١٠٠°م ، ويتصلب بالتبريد عند حوالى ٤٢°م ، ولايتعرض للتحلل من أغلب أنواع البكتريا ، ولذلك فانه يضاف إلى البيئة البكتيرية ليس كمصدر غذائى ، بل كعامل تصليب Solidifying agent ، لتنمية وعزل أنواع البكتريا خليطة التغذية ، حيث يضاف للبيئة بتركيز ١,٥ - ٢% .

قليل من الأنواع البكتيرية قادرة على تحليل الأجار ، وقدعزلت تلك الأنواع من مياه البحار والأعشاب البحرية ، ووجد أنها تتبع الأجناس :
Alcaligenes. Bacillus. Cytophaga. Flavobacterium and *Pseudomonas*

الجل رايت : Gelrite

الجيل رايت بوليمر عديد التسكر ، يتركب من سكريات متعادلة من الجلوكوز والجلاكتوز بنسبة مولارية ١:٧ ، ويحتوى أيضا على ٢-٣,٥% مجاميع أسايل (مجاميع اسيتايل أو سكسينايل أو مخلوط منهما) ، و ٣-٤% بيروفات ، وينتج الجيل رايت تخميريا بواسطة بكتريا *Agrobacterium radiobacter* ، كما تقوم بإنتاجه بعض الأنواع التابعة لأجناس *Alcaligenes, Arthrobacter & Bacillus* .

ويستخدم حاليا ، الجل رايت كمادة مصلبة ، وذلك كبديل لمادة الأجار التى تستخدم فى المنابت الميكروبية ، وبتركيز يعادل نصف الكمية المستخدمة من الأجار ، كما يستخدم الجل رايت فى مزارع الأنسجة النباتية ، وفى عمليات التصنيع الغذائى ، وفى تحميل الانزيمات .

ويتميز الجل رايت عن الأجار ، فى أنه سريع التصلب ، منخفض التكلفة ، ويستخدم بتركيزات منخفضة ، وهو غير سام ، ولايسبب تعكيرا بالبيئة .

وينتج الجل رايت تخميريا باستخدام طريقة المزارع المغمورة ، تحت ظروف هوائية ، فى بيئة تحتوى على الجلوكوز كمصدر للكربون ، ونترات الأمونيوم وبروتين فول الصويا ، كمصدر للنتروجين ، كما تحتوى البيئة على الفوسفات وبعض المعادن كالحديد والمغنسيوم والمنجنيز ، وتقوم البكتريا المستخدمة ، بتحويل ٥٠% من كربون الجلوكوز ، الى البوليمر خلال ٦٠-٧٠ ساعة ، حيث تصل لزوجة سائل التخمر الى ١٩٠٠ - ٢٣٠٠ وحدة لزوجة Centipoise* .

ويتم فصل الجل رايت من البيئة بعد إضافة الايزوبروبانول ، فى صورة رواسب ليفية Fibrous precipitate .

المواد المنظمة للحموضة : Buffers

المواد المنظمة للحموضة ، هى أملاح لأحماض ضعيفة ، لها القدرة على مقاومة التغير الذى يحدث فى حموضة أو قلوية البيئة . ومن الأملاح الهامة التى تضاف عادة للبيئة ، كمواد منظمة ، أملاح الفوسفات** والكربونات ، كما أن بعض مكونات البيئة ، مثل الببتون ، يكون لها قدرة تنظيمية ، ويتوقف مدى تلك القدرة ، على كمية الببتون المضاف للبيئة .

للمواد المنظمة أهمية كبيرة فى البيئات الكربوهيدراتية ، التى عند تخمرها تكون أحماضا ، وبتراكم تلك الأحماض بالبيئة ، يقف نمو البكتريا ، وفى مثل هذه البيئات ، فإن وجود المواد المنظمة (مثل أملاح الكربونات) التى تقاوم تغير الحموضة الناتجة من التخمر ، يجعل البكتريا قادرة على الاستمرار فى النمو .

---

* السنتى بواز يساوى ١/١٠٠ من البواز
والبواز Poise هو وحدة تقدير للزوجة (خاصية مقاومة السائل للانسياب) ، أى أنه عبارة عن القوة المحركة لواحد جرام مادة لمسافة ١ سم فى الثانية ، وينسب اسم البواز إلى العالم الفرنسى Poiselle .
Ref: **Botty J. and S. L. Folkman (1999). Food Engineering Fundamentals.** pp. 143 & 144. John Wiley and Sons Inc., New York.

** يكوّن حامض الفوسفوريك ثلاثة أنواع من أملاح الفوسفات
- فوسفات قلوى ، رمزه PO_4^{3-} -
- فوسفات متعادل ، HPO_4^{2-} - ، فوسفات أحادى الايدروجين
- فوسفات حامضى ، $H_2PO_4^{1-}$ - ، فوسفات ثنائى الايدروجين

أنواع البيئات : Types of media

يُستعمل فى أعمال البكتريولوجى أنواع كثيرة من البيئات ، تختلف فى شكلها وفى تركيبها حسب الإحتياجات الخاصة بالبكتريا موضع الدراسة ، على سبيل المثال ، فالبكتريا ذاتية التغذية (الأوتوتروفية) ، لاتستطيع أن تستخدم المواد العضوية ، ولكنها تحتاج لوجود أملاح غير عضوية بالبيئة ، بينما تتطلب البكتريا خليطة التغذية (الهتروتروفية) ، وجود مواد عضوية مثل السكريات والببتون والأحماض الأمينية والفيتامينات ، وقد يتطلب الأمر فى حالة البكتريا المتطفلة (مثل بكتريا الجذام) ، إلى زراعتها فى نسيج حى (الفار) .

البيئات من حيث الشكل

تقسم البيئات من حيث الشكل إلى بيئات سائلة Liquid ، ونصف صلبة Semi solid، وصلبة Solid ، ويعتبر استخدام البيئات السائلة (مرق أو بويون Broth) ، الموزعة بأنابيب الاختبار ، من الطرق السهلة لزراعة وتداول البكتريا ، غير أن استخدام البيئات الصلبة ونصف الصلبة ، هو الأكثر شيوعا لزراعة البكتريا ، ويتم ذلك بإضافة مادة تصلب القوام إلى البيئة السائلة ، فتتصلب البيئة عندما تبرد . ويستعمل لهذا الغرض الأجار بتركيز ١,٥ - ٢,٠% ، وذلك لتنمية البكتريا الهتروتروفية ، بينما تستعمل مادة السليكا جل Silica gel ، وهى مادة مصلبة غير عضوية ، لتنمية البكتريا الأوتوتروفية ، التى تتطلب خلو بيئتها من المواد العضوية .

عموما ، فإن البيئات الصلبة تفيد فى عزل البكتريا ، وفى دراسة خواص المستعمرات النامية عليها .

ومن المواد التى كانت تستخدم فى تصليب البيئة ، مادة الجيلاتين بتركيز ١٢-١٥% ، وقد قل إستخدام الجيلاتين الآن كعامل تصليب ، نظرا لتحوله إلى الصورة السائلة عند درجات حرارة أعلى من ٢٥°م ، ولتأثير بعض الميكروبات عليه وتحويله إلى الحالة السائلة ، وإن كان مازال الجيلاتين يستخدم لإختبار قدرة بعض الميكروبات على تحلله .

ومن أوائل البيئات السائلة المستخدمة ، بيئة المرق المغذى Nutrient broth ، التى تتكون من ٣ جم مستخلص لحم ، ٥ جم ببتون ، ١٠٠٠ مل ماء ودرجة ق يد ٧,٢ . ومن أمثلة البيئات الصلبة بيئة الاجار المغذى Nutrient agar ، حيث يضاف الى مكونات البيئة السابقة ١,٥% اجار .

تحضر البيئات نصف الصلبة ، باستعمال الآجار بنسبة ٠,٥% (أو أقل) ، ويكون قوامها شبيه بالكسترد Custard-like ، وتستعمل هذه البيئات فى زراعة البكتريا المحبة للهواء بكمية قليلة ، أو للكشف عن حركة البكتريا .

وحاليا ، تقوم الشركات المتخصصة ، بإعداد البيئات اللازمة للمعامل الميكروبيولوجية مجففة Dehydrated media ، وتباع فى صورة مسحوق ، وتحتوى البيئة المجففة على جميع المكونات المطلوبة . وقبل استعمال البيئة المجففة ، تذاب محتوياتها فى كمية الماء المطلوبة ، ثم تعقم .

البيئات من حيث التركيب

تقسم البيئات حسب طبيعة المكونات الداخلة فى التركيب إلى مجموعتين : بيئات محددة (معروفة) التركيب Defined ، وبيئات غير محددة التركيب Non-defined .

البيئات المحددة التركيب ، تحتوى على المواد اللازمة للنمو ، فى صورة كيميائيات نقية تقريبا وبتركيزات معروفة ، وتصلح هذه البيئات لتنمية البكتريا ذاتية التغذية ، ولتحديد الاحتياجات الغذائية للبكتريا خليطة التغذية .

أما البيئات غير المحددة التركيب ، وقد تسمى ببيئات معقدة Complex media ، فهى التى تحتوى على مايلزم لنمو الميكروبات من مواد بشكلها الخام Crude form ، بمعنى أن جميع مكونات البيئة غير معروف دقائق تركيبها بالضبط ، مثل الببتون ، ومستخلص اللحم ، ومستخلص الخميرة ، والدم ، وسيرم الدم . وتصلح هذه البيئات لزراعة أنواع عديدة من البكتريا خليطة التغذية .

من البيئات المعقدة المستخدمة فى التخمرات الصناعية ، ماتحتوى على المولاس ، مستخلص المولت ، سائل منقوع الذرة ، مستخلص فول الصويا ، والشرش ... الخ ، كما أن هناك من الأحياء الدقيقة مثل الفطريات المحبة للروث Coprophilic fungi ، مايحتاج فى بيئتة الى تواجد مستخلص منقوع روث الخيول .

جدولى [٦ (٢) - ٣ و ٤] يوضحان تركيب بيئة غذائية ، صناعية محددة التركيب ، تستخدم لتنمية العديد من البكتريا .

جدول ٦ (٢) - ٣ : مكونات بيئة غذائية بكتيرية محددة التركيب .

K_2HPO_4	0.5 g
NH_4Cl	1.0 g
$MgSO_4$, $7H_2O$	0.2 g
$FeSO_4$ $7H_2O$	0.01 g
$CaCl_2$. $2H_2O$	.0.01 g
Glucose	10.0 g
Water	1000 ml
* Trace element stock solution	1 ml

• أنظر جدول ٦ (٢) – ٤ (مكونات العناصر المعدنية النادرة)

جدول ٦ (٢) - ٤ : مكونات العناصر المعدنية النادرة [١] .

$ZnCl_2$	70 mg
$MnCl_2 .4H_2O$	100 mg
$CoCl_2 .6H_2O$	200 mg
$NiCl_2 .6H_2O$	100 mg
$CuCl_2 .2H_2O$	20 mg
$Na M_OO_4 .2HO$	50 mg
$Na_2SeO_3. 5H_2O$	26 mg
$[Na VO_3 . H_2O]$ [٢]	[10 mg][٢]
$[Na_2, WO_4. 2H_2O]$ [٢]	[30 mg][٢]
HCl (25%)	1.0 m:
Distilled water	1000 ml

(1) From : Schlegel, 1995.

(٢) مطلوبة لعدد محدود من الكائنات

Se : Selenium,   V : Vanadium   W : Tungsten

البيئات من حيث غرض الاستعمال

تقسم البيئات حسب الغرض من الاستعمال الى

بيئات العد : Media for inumeration

تستعمل أنواعا معينة من البيئات ، لتقدير المحتوى البكتيرى الموجود فى مـــادة مـــا ، مثل الماء ، أو اللبن ، أو التربة . وتركيب هذه البيئات ، يجـــب أن يكـــون مناســـبا للغـــرض المطلوب .

بيئات انتقائية : Selective media

يتوفر بهذه البيئات العناصر الغذائية اللازمة والوسط المناسب ، الـــذى يســـمح بنمـــو وسيادة نوع معين من البكتريا على الأنواع الأخرى الموجودة بالوسط ، وكأمثلة لذلك

* استعمال بيئة مصدر الكربون الوحيد بها هو السليلوز ، يعتبر بيئة انتقائية وإكثـــار للكائنـــات المحللة للسليلوز ، وذلك عند تلقيح البيئة بعينة تربـــة تحتـــوى علـــى أنـــواع مختلفـــة مـــن الميكروبات .
* عزل بكتريا مرض السيلان ، من عينة مأخوذة من مريض ، يتم بســـهولة باســـتعمال بيئـــة تحتوى على مضادات حيوية معينة ، لاتؤثر فى بكتريا السيلان ، ولكن توقف نمو الكائنـــات الأخرى الملوثة .

إن نجاح النمو البكتيرى فى بيئات الانتقاء والاكثار ، يعتمد فى حـــالات كثـيرة علـــى ماتحتويه تلك البيئات من مثبطات انتقائية Selective inhibitors ، كاســـتخدام الأزيـــد Azide كمثبط إنتقائى ضد البكتريا الهوائية التى تحتوى على سيتوكروم ، حيث يسمح الأزيد المضـــاف للبيئة بنمو بكتريا حامض اللاكتيك تحت ظروف هوائية ، مع تثبيـــط نمـــو البكتريـــا الهوائيـــة الأخرى وذلك لتثبيط الأزيد للسيتوكروم اللازم لاتمام عملية التنفس بها . كما يضاف البنســـلين إلى بيئة الإكثار ، لتثبيط نمو البكتريا الموجبة لصبغة جرام ، ويتوقف نمو الخمائر والفطريـــات والبروتوزوا وحقيقيات النواة الأخرى ، فـــى البيئـــة المضـــاف لـــها مـــادة السيكلوهكســـيميد Cycloheximide.

بيئات الإكثار : Enrichment media

يعتبر استخدام طريقة بيئات الإكثار ، من الطرق الفعالة التى تســـتخدم لتشـــجيع نمـــو النوع البكتيرى المطلوب ، بحيث يتغلب فى نموه على نمو أنواع البكتريا الأخرى المخالطه لـــه ، وبذلك يسود النوع البكتيرى المطلوب فى المزرعة ، ويمكن بذلك عزله ودراسة خواصه .

ويتم ذلك ، بأن نوفر فى مزرعة الإكثار Enrichment culture ، العوامل المناسبة من مكونات غذائية وظروف بيئية ، التى تعمل على تكاثر وسيادة النوع البكتيرى المطلوب ، ومـــن تلك العوامل التى تراعى عند تجهيز بيئة الإكثار : مصدر الطاقة ، طبيعة ومصـــدر الكربـــون والنتروجين ، الوسط الغازى ، ق يد ، درجة الحرارة ، الإضاءة ... الخ .

مثالاً على ذلك

* استخدام بيئة معدنية سائلة ، خالية من النتروجين ، مع مصدر ضوئـــى كمصـــدر للطاقـــة ، وتحت ظروف هوائية ، لإكثار وعزل السيانوبكتريا .
* استخدام بيئة سائلة ، خالية من النتروجين ، ذات مصدر كربون وطاقة عضـــوى ، وتحـــت ظروف هوائية ، وفى الظلام ، لإكثار وعزل الأزوتوباكتر .

وتستخدم تلك الظروف السابقة ، ولكن تحت الظروف اللاهوائية ، لعزل الكلوستريديوم .

ويتوقف نوع الكربون المستخدم فى بيئة الإكثار ، على المكان الذى أخذ منه اللقاح

* فمثلاً يستخدم الهيموجلوبين ، لإكثار سلالات مخلفات المجازر .
* ويستخدم الهيدروكربون ، لإكثار سلالات حقول البترول ومصانع التكرير .

وتستخدم البيئات السائلة عادة ، كبيئات إكثار ، وقد لايمكننا ذلك من الحصـــول علـــى مزرعة نقية ، من البكتريا الجارى إكثارها ، غير أنه بتكرار نقل البكتريا وزراعتها على نفـــس بيئة الإكثار المختارة وتحت نفس الظروف البيئية ، فإنه يمكن بعد ذلـــك ، باســـتخدام البيئـــات الصلبة ، عزل السلالة أو النوع البكتيرى المطلوب ، وذلك مـــن مســـتعمرات منفصلـــة عـــن بعضها .

إضافة إلى ماسبق ، فإن بيئة الإكثار قد تستخدم أيضا كبيئة إنتقائية ، لبعض أنواع البكتريا ، مثل بيئة Tetrathionate broth base* المستخدمة لإكثار وعزل السالمونيلا .

بيئات تفريقية : Differential media

بعض المواد اذا أضيفت للبيئة ، تمكننا من أن نفرق بين الأنواع المختلفة من البكتريا الموجودة على نفس البيئة ، مثال ذلك

- عند تلقيح خليط من الميكروبات فى بيئة أجار الدم ، فإن بعضها يحلل كرات الدم الحمراء ، والبعض الاخر لايقدر على ذلك . وبذلك نستطيع أن نفرق بين البكتريا المحللة للدم Hemolytic ، وغير المحللة Non-hemolytic على نفس البيئة .
- استعمال بيئة Eosine Methylene blue ، يمكننا من أن نفرق بين البكتريا المحللة والبكتريا غير المحللة لسكر اللاكتوز .

بيئات دراسة مميزات البكتريا : Media for characterization

فى الدراسات الخاصة بتصنيف البكتريا ، فإنه تستعمل بيئات متعددة ، تركيب كل منها يتوقف على الغرض المطلوب ، وذلك لدراسة مميزات البكتريا موضع الدراسة ، وتحديد قدراتها على إحداث تغيرات كيميائية فى الوسط ، وتحديد النوع البكتيرى الناتج من النمو .

بيئات تقدير حيوى : Bioassay media

تستعمل بيئات ذات تركيب محدد لتقدير الفيتامينات ، والأحماض الأمينية ، والمضادات الحيوية ، والمواد القاتلة للميكروبات .

ينمى على البيئة المختارة ، البكتريا الحساسة للمادة الحيوية المراد إختبارها ، أو المادة المطلوب تقدير كميتها ، ومن معدلات النمو البكتيرى الناتجة بعد التحضين ، يمكن معرفة حساسية البكتريا للمضاد المختبر ، أو كمية المادة الحيوية الموجودة بالعينة .

مثالاً على ذلك ، تقدير الثيامين بواسطة بكتريا *Lactobacillus casei* ، وتقدير النياسين بواسطة *L. plantarum* ، وتقدير قوة البنسلين بواسطة *Staphylococcus aureus* .

بيئات الحفظ : Maintenance media

يتطلب حفظ المزرعة البكتيرية بشكل مرضى لمدة طويلة ، الحفاظ على حيوية البكتريا وخواصها الفسيولوجية . وقد يتطلب ذلك استعمال بيئة تختلف عن البيئة المثلى المستعملة للنمو إذ أن النمو السريع قد يكون مصحوبا أيضا بموت سريع فى نهاية طور النمو . على سبيل المثال ، فإن وجود جلوكوز بالبيئة ، سيشجع النمو البكتيرى ، ولكن الأحماض المتكونة ستكون ضارة بالخلايا . لذلك ، فإن استبعاد الجلوكوز فى هذه الحالة من بيئة الحفظ ، أو تقليل كميته ، يكون مفضلاً .

---

* **Difco Manual (1992). Dehydrated Cultures. Media and Reagents. Difco Laboratories, Detroit, USA.**

عموما ، فإن الأساس ، فى عمليات حفظ المزارع المعملية لحين طلبها ، هو الإعتماد على ظاهرة إيقاف النمو الميكروبى ، بمعنى المحافظة على حياة ميكروبات المزرعة بدون نمو أو تكاثر ، وللوصول إلى حالة السكون المطلوبة Dormancy لتلك المزارع ، فإن أغلب طرق الحفظ تعتمد على استعمال التبريد ، أو التجفيف ، أو الأثنين معا (التجفيد) .

المزرعة النقية : Pure culture

لاتحتاج الميكروبات فى نموها إلى مساحات كبيرة ، إذ يمكن أن تتم التنمية فى أنابيب اختبار ، أو دوارق ، أو أطباق بترى ، وهى الأوعية الثلاثة التى تستعمل عادة فى تنمية الميكروبات . ونظرا لصغر حجم الميكروبات ، فإن دراسة خواصها ، فى أغلب الأحوال ، لايتم بفحص أفراد Individuals ، بل بفحص عشيرة (مجموعة من الأفراد Populaltion) ، ويتم ذلك بتنمية الميكروبات فى بيئة مناسبة ، لعمل مزرعة Culture .

وتتواجد الميكروبات فى الطبيعة ، بشكل خليط ، يجمع بين أجناس عديدة مختلفة ، وبأعداد كبيرة . ولدراسة مميزات نوع معين ، ومعرفة نشاطه ، وتعريفه ، فإنه يصبح من الضرورى فصله أولا بحالة نقية من الأنواع الأخرى المصاحبة له . وقد أمكن بتطور الطرق المعملية ، عزل البكتريا التى تمثل كل نوع ، وتنمية كل منها منفصلاً عن الأنواع الأخرى .

تكوّن كتلة الخلايا النامية لنوع واحد من الميكروبات ، فى بيئة مزرعية ، مايعرف بالمزرعة النقية ، بمعنى أن المزرعة النقية Pure culture; Axenic culture ، هى المزرعة التى تحتوى على نوع واحد من الميكروبات ، أو المزرعة الناتجة من خلية واحدة ، أما المزرعة التى تحتوى على أكثر من نوع واحد من الميكروبات ، فتسمى مزرعة خليطة Mixed culture .

يتم الحصول على مزرعة نقية فى خطوتين متتاليتين هما : العزل Isolation ، أى فصل نوع معين من الميكروبات من المجتمع الخليط الذى يعيش فيه فى الطبيعة ، ثم الزراعة Cultivation ، أى تنمية الميكروب المعزول فى بيئة صناعية ، تحت الظروف المعملية . والأسس المتبعة فى تلك الخطوات ، هى نفسها ، المستخدمة للحصول على مزارع نقية ، من جميع الكائنات المجهرية سواء أكانت فيروسات أو بكتريا أو فطريات أو طحالب أو بروتوزوا ، وأيضاً بالنسبة للحيوانات اللافقارية الصغيرة . وقد تطورت تلك الطرق فى السنوات الأخيرة ، بعمل المزارع النسيجية (مزارع الانسجة) Tissue cultures ، من خلية أو من نسيج ، مأخوذ من النباتات أو الحيوانات الراقية .

ومن أهم الطرق المستخدمة للحصول على مزارع نقية للبكتريا : طريقة الأطباق المخطوطة Streak-plate method ، وطريقة الأطباق المصبوبة Pour-plate method . والأساس فى هذه الطرق ، هو إجراء تخفيف كبير لخلايا البكتريا الخليطة ، ثم التنمية على بيئات صلبة مناسبة فى أطباق بترى ، فتنمو كل خلية مكانها على الطبق ، فى حالة منفصلة متباعدة عن الأخرى (بسبب عمليات التخفيف التى تمت) ، ويأخذ النمو شكل مستعمرات Colonies منفصلة على البيئة الصلبة (الآجار عادة) ، وبذلك يمكن عزل البكتريا فى أنابيب مستقلة ، تحتوى على البيئة المغذية المناسبة ، وبالتحضين نحصل على المزرعة النقية .

بعض أنواع البكتريا المتحركة مثل *Bacillus, Proteus & Pseudomonas* ، تنتشر بسرعة على سطح البيئة الصلبة الرطبة ، وبذلك لاتكون مستتعمرا تا منفصلة على سطح البيئة ، ويمكن تجنب ذلك بأستعمال أطباق ذات أسطح من البيئة جافة تماما .

ومما يساعد أيضا فى الحصول على مزارع نقية ، إضافة المضادات الحيوية للبيئة ، إذ أن المضادات متخصصة فى تأثيرها القاتل للميكروبات . على سبيل المثال ، فإن إضافة البنسلين بتركيزات عالية يمنع نمو البروكاريوتا ، وبذلك يمكن تنقية البروتوزوا والفطريات من البكتريا الملوثة ، كذلك فإن إضافة النستاتين Nystatin للبيئة (وهو مثبط لنمو الأيوكاريوتا) ، سيمكننا من عزل البكتريا الملوّثة بالفطريات والأميبا .

تصلح البيئات الصلبة ، وطريقة الأطباق المخطوطة أو المصبوبة ، للحصول على مزارع نقية من أغلب أنواع البكتريا والفطريات والطحالب وحيدة الخلية ، لأن أغلب أنواع هذه الكائنات يستطيع أن ينمو جيدا على البيئات الصلبة . غير أن بعض أنواع البكتريا ذات الخلايا الكبيرة ، وكثير من الطحالب والبروتوزوا ، تُنمّى فى بيئات سائلة . كما أن الكثير من الفيروسات تعزل فى بيئات سائلة تحتوى على خلايا العائل المناسب لها .

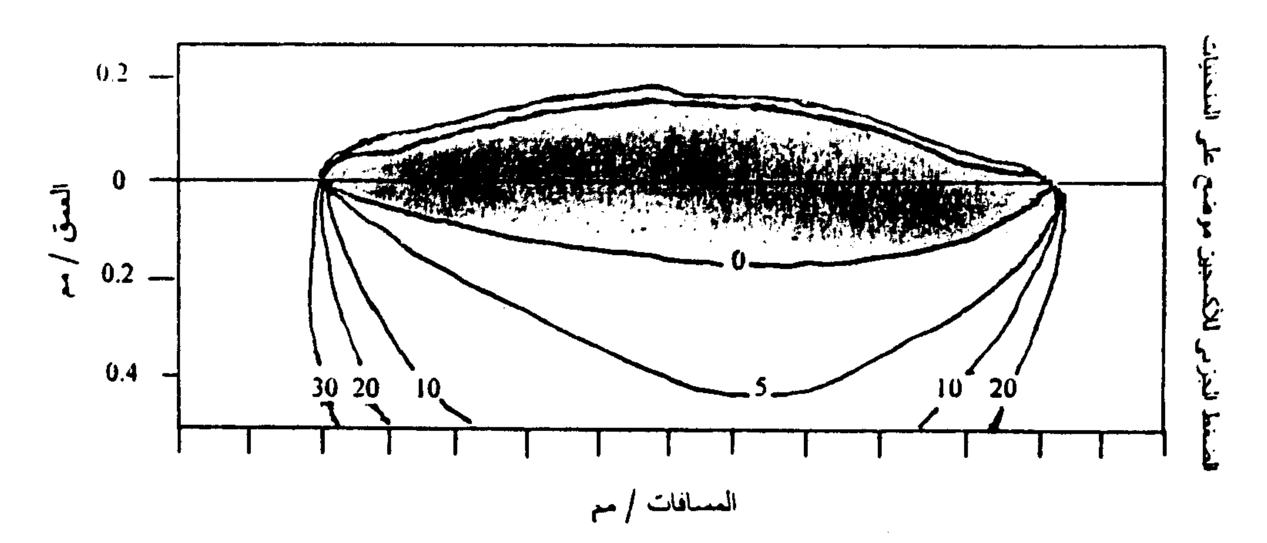
وأبسط الطرق المستعملة للعزل فى البيئات السائلة ، هى طريقة التخفيف Dilution method ، حيث تجرى تخفيفات متسلسلة من اللقاح ، ثم تلقح هذه التخفيفات فى أنابيب البيئة السائلة ، وتحضن ، وتفحص الأنابيب ذات التخفيفات الكبيرة ، للمزارع النقية .

المزارع المهواه : Aerated cultures ، والتهوية Aeration

تحتاج البكتريا الهوائية فى نموها ، إلى وجود الأكسجين بالوسط ، حيث يعمل كمستقبل نهائى للالكترونات مع إختزاله إلى ماء ، فإذا ما وجدت البكتريا الهوائية على سطح بيئة صلبة ، أو فى طبقات رقيقة ملامسة للهواء بالمزارع السائلة ، فإن الإمداد الأكسجينى للبكتريا الهوائية يكون كافيا لكى تنمو بدرجة جيدة . ومع نمو هذه البكتريا الهوائية على سطح البيئة السائلة ، واستهلاكها المستمر للأكسجين الذائب الموجود بالبيئة ، تصبح الظروف تحت سطح البيئة السائلة وفى أعماقها ، ظروفا لاهوائية .

ويزداد الانخفاض فى نسبة الأكسجين بالبيئة كلما زاد عمق البيئة ، حيث تصبح الظروف لاهوائية غير مناسبة لنمو البكتريا الهوائية بأعماق البيئة السائلة . ويؤدى إنخفاض نسبة الأكسجين الذائب بأعماق البيئة ، إلى الحد من قدرة البكتريا على استهلاك الأملاح المعدنية والمغذيات الأخرى العضوية الموجودة بالبيئة ، وبالتالى إلى توقف النمو البكتيرى .

وشكل [٦ (٢) - ١] ، يوضح توزيع الأكسجين فى مستعمرة بكتيرية ، نامية على بيئة اجار .



شكل ٦ (٢) - ١ : توزيع الأكسجين تحت وبداخل مستعمرة بكتريا *E. coli* نامية على بيئة أجار معقدة •.

الضغط الجزئى للأكسجين بالمستعمرة ، مقدر بعد ٣ أيام من التحضين على درجة ٣٠°م ، بالكترود أكسجينى دقيق ، ومحسوب كنسبة مئوية من الضغط الأكسجينى المتحصل عليه من بيئة الأجار الموضوعة فى جو مشبع بالهواء .

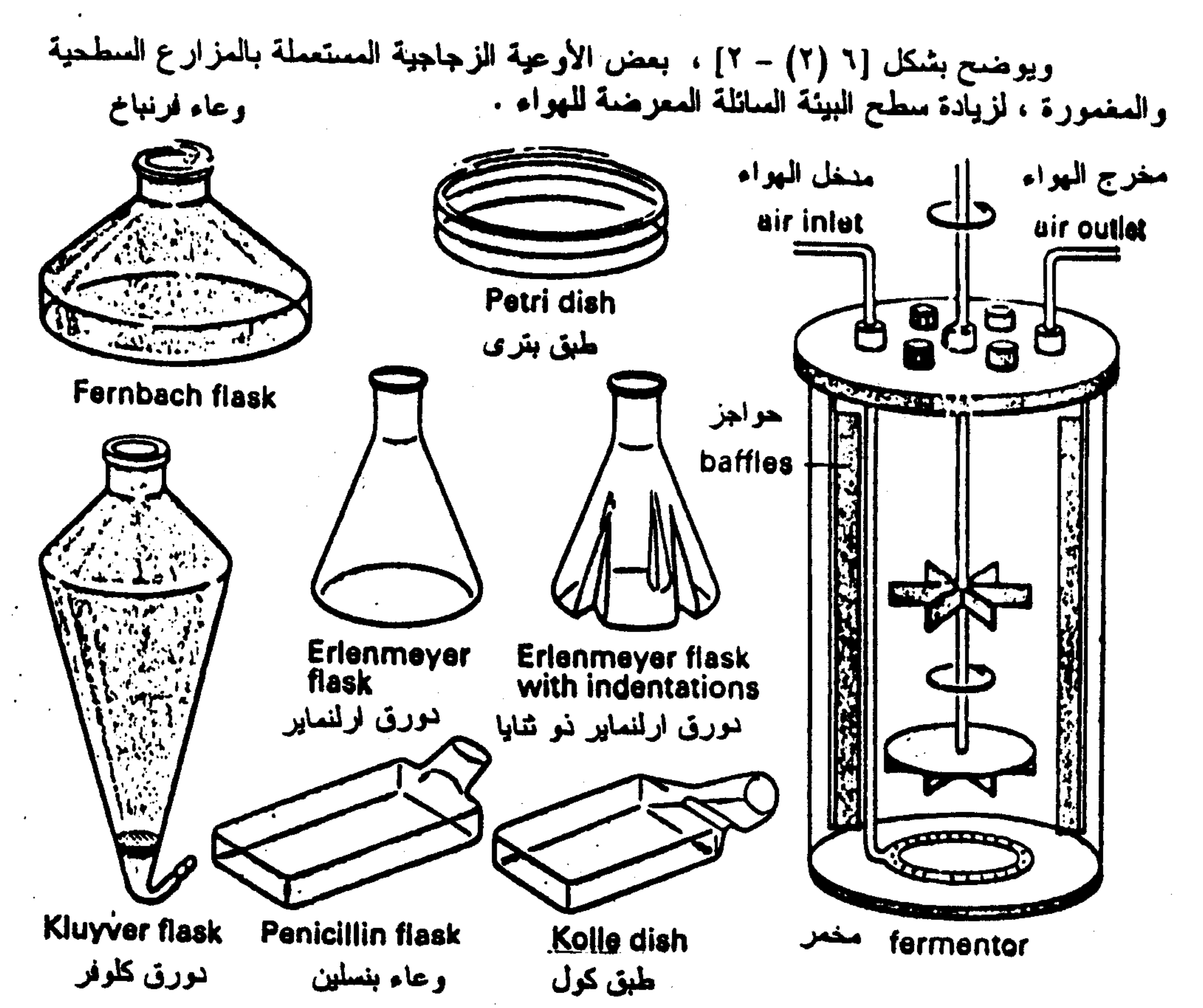
لاحظ أن ضغط الأكسجين الجزئى تحت المستعمرة ، يقل كلما إتجهنا من خارجها أو من أسفلها ، إلى مركزها .

يحتوى لتر الماء• الموجود فى حالة اتزان مع الهواء عند درجة ٢٠°م ، وتحت ظروف الضغط الجوى العادى ، على ٦,٢ ملليلتر أكسجين (تعادل ٠,٢٨ نانومول أكسجين) ، وتكفى هذه الكمية لأكسدة ٠,٠٤٦ نانومول (أى ٨,٣ ملليجرام) جلوكوز ، وهى كمية من الجلوكوز تعادل واحد على ألف من تركيز الجلوكوز الموجود فى البيئة الغذائية ، وللتغلب على نقص الأكسجين بالبيئة السائلة ، بهدف المحافظة على المستوى المناسب من الأكسجين الذائب لتنفس الخلايا البكتيرية ، ومن ثم لتنمية البكتريا الهوائية على إمتداد عمق المزرعة السائلة ، فإنه يلزم توفير إمداد مستمر من الأكسجين للخلايا البكتيرية النامية بالبيئة الغذائية السائلة ، ويتم ذلك عن طريق التهوية Aeration .

ويلاحظ أنه حتى تحت ظروف التهوية الجيدة بالمخمرات ، فإن توزيع الأكسجين بالبيئة السائلة لايكون دائما متماثلاً فى كل أجزاء البيئة ، فقد تتواجد بالبيئة مواقع دقيقة ذات ظروف شبه لاهوائية ، وتنتج هذه المواقع من تكتل المجاميع الميكروبية بوسط النمو ؛ أو من وجود مواد معلقة دقيقة بالمياه المستخدمة فى عمل البيئة ، وتعالج هذه الحالات بإضافة مواد صلبة مثل الطمى ، السليلوز ، أو البكتين ، الى المعلق البكتيرى بالبيئة .

• From : Schlegel, 1995.

ويوضح بشكل [٦ (٢) - ٢] ، بعض الأوعية الزجاجية المستعملة بالمزارع السطحية والمغمورة ، لزيادة سطح البيئة السائلة المعرضة للهواء .



شكل ٦ (٢) - ٢ : أوعية مختلفة تستعمل فى تنمية البكتريا الهوائية بطريقة المزرعة السطحية والمغمورة .

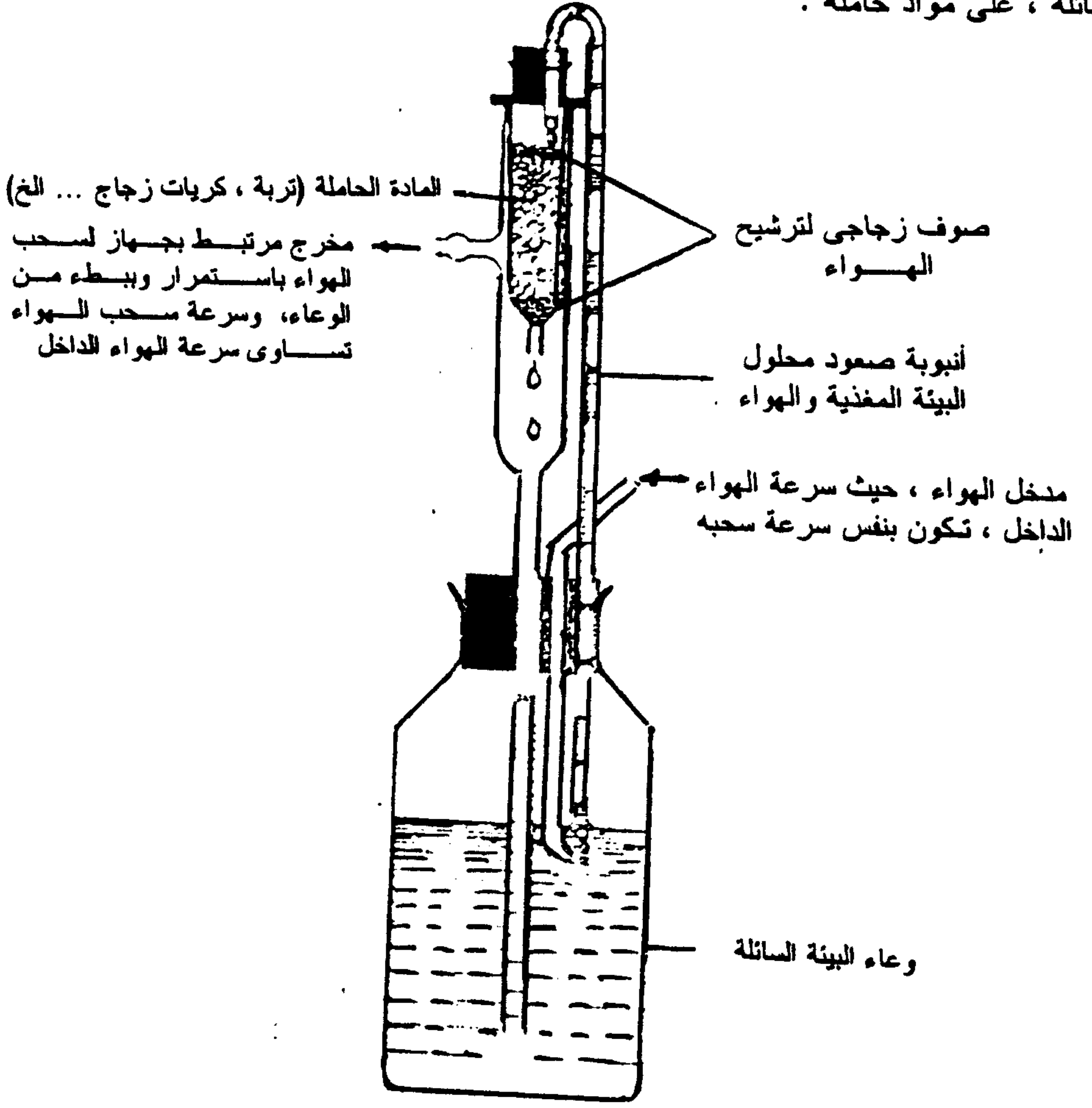
وعادة مايتم تهوية المزارع السائلة باستخدام الهواء ، أو باستخدام مخلوط غازى من الأكسجين والنتروجين وثانى أكسيد الكربون ، ويمكن زيادة معدل سريان الأكسجين بالبيئة السائلة ، بزيادة الضغط الجزئى للأكسجين وهو فى صورته الغازية Gas phase ، وبزيادة سطح البيئة السائلة المعرض للهواء Gas-liquid interphase ، ويتم ذلك بوسائل متعددة منها

- استخدام تقنية مزارع الطبقات الرقيقة Thin-layer cultures .
- الرج باستخدام الهزازات الرحوية Reciprocal shakers أو الدائرية Rotary shakers .
- لف دوارق مزارع البيئة أفقيا حول محورها الطولى .
- دفع الهواء تحت ضغط بالمزرعة ، من خلال موزع غازى مناسب Gas distributor .

- ترشيح الهواء الداخل إلى المزرعة السائلة ، من خلال إمراره على صوف زجاجى وأعمدة بها مواد محببة ككريات الزجاج [شكل ٦ (٢) - ٣] .
- الرج الميكانيكى Mechanical stirring .

وعند تنمية البكتريا الهوائية بطريقة المزارع المغمورة ، فإنه غالبا ماتستخدم طرقا تجمع مابين الرج الميكانيكى وضخ الهواء من خلال رشاشات الهواء Air-spargers .

ويوضح الشكل [٦ (٢) - ٣] ، أحد الأجهزة المستخدمة لامرار الهواء ومغذيات البيئة السائلة ، على مواد حاملة .



شكل ٦ (٢) - ٣ : جهاز لتخلل الهواء والمادة الغذائية بالمادة الحاملة
يخرج الهواء من الجهاز ببطء وبانتظام ، ويحل محله هواء جديد من مدخل خاص بنفس السرعة ، دافعا معه مكونات البيئة الغذائية لأعلى خلال أنبوبة الصعود ، لتمر على محتويات المادة الحاملة وعلى الصوف الزجاجى .

زراعة البكتريا اللاهوائية : Cultivation of anaerobic bacteria

لكى تنمو البكتريا اللاهوائية إجبارا ، فإنه يجب إتخاذ مايكفى من إحتياطات ، لاستبعاد الأكسجين الجوى من وسط النمو ، ويمكن الوصول إلى ذلك باستخدام إحدى الطرق التالية

١- استخدام بيئات سبق إختزالها : Prereduced media

تغلى البيئة أثناء تحضيرها لعدة دقائق ، ليخرج منها أغلب مابها من أكسجين ذائب ، ثم يضاف للبيئة مادة مختزلة مثل حامض الأسكوربيك ، الثيوجليكولات ، السستئين ، أو الكبريتيد ، للإكثار من تقليل محتوى البيئة من الأكسجين ، وبعد ذلك ، توزع البيئة فى الأنابيب ثم تقفل بإحكام وتعقم ، ومثل هذه الأنابيب ، يمكن تخزينها لعدة أشهر قبل الاستعمال .

وقد يمرر بالبيئة الملقحة ، تيار من النتروجين الخالى من الأكسجين فى صورة فقاعات غازية ، وهى التقنية التى أضافها Hungate ، لزيادة المحافظة على الظروف اللاهوائية بالبيئة .

٢- استخدام البرطمانات اللاهوائية : Anaerobic jars

من البرطمانات المستخدمة فى التنمية اللاهوائية ، وعاء بروور Brewer jar وجهاز ماكنتوش وفيلدز Mc Intosh & Fildes jar ، ويتم التخلص مما بالجهاز من أكسجين بعد وضع المزارع به وقفله ، بجعل الأكسجين الموجود بالجهاز يتحد مع الايدروجين فى وجود عامل مساعد من البلاديوم ، ثم يحضن الجهاز بما يحتويه من مزارع [شكل ٦ (٢) - ٤] .

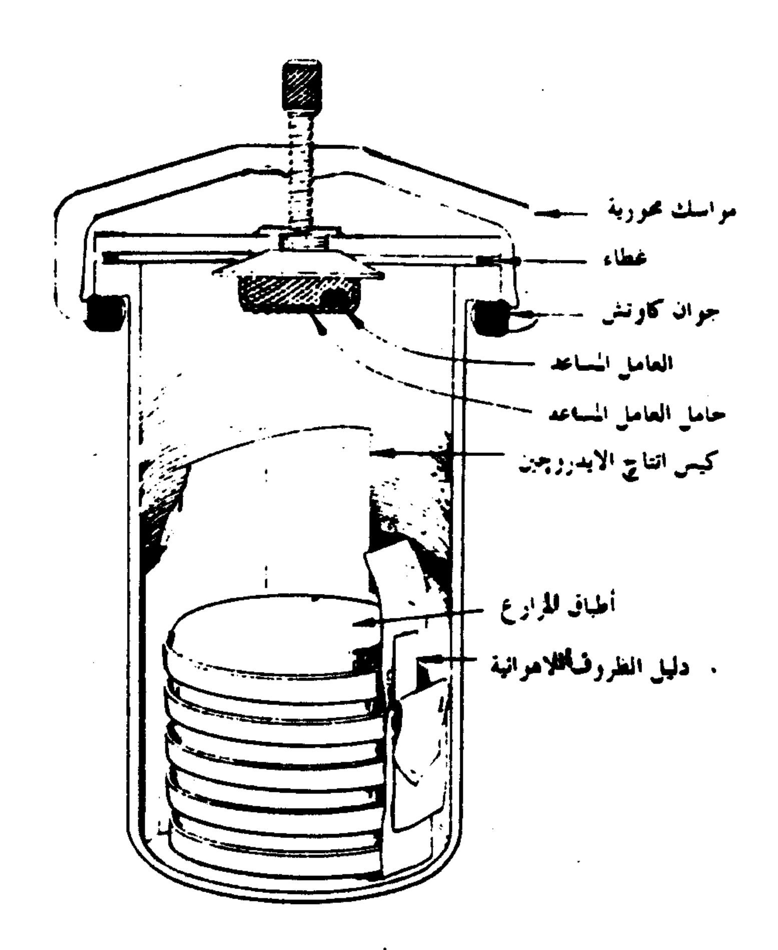
وقد تزود هذه البرطمانات بعبوات غازية Gas Pak ، تعمل على ملأ البرطمان بغازات CO_2 & H_2 ، لتحل محل مابها من أكسجين .

وقد توضع فى برطمانات التنمية اللاهوائية ، أو فى المجففات الجارى تنمية البكتريا بها ، موادا ممتصة للأكسجين مثل مادة Alkaline pyrogallol dithionite ، لجعل الظروف بالبرطمان ظروفا لاهوائية .

٣- استخدام الغرف اللاهوائية : Anaerobic chambers

الغرف اللاهوائية عبارة عن صناديق من البلاستيك محكمة القفل ذات حجم مناسب ، تستعمل فى التنمية اللاهوائية ، وقد حل محل مابها من هواء ، خليط من غازات H_2, CO_2 & N_2 أو غاز الأرجون . وهذه الغرف مزودة بمداخل ذات قفازات من الكاوتش ، تساعد القائم بالعمل على التعامل مع المعدات والبيئات الموجودة بالغرف .

وتجهز الغرف من الداخل بنظام لامداد الغازات ، والأشعة فوق البنفسجية ، والتيار الكهربائى ، كما أن الغرف مزودة بحضانات لتنمية ماتم تلقيحه بها من مزارع .



شكل ٦ (٢) – ٤ : وعاء بروور للتنمية اللاهوائية باستخدام الايدروجين .

دلائل التنمية اللاهوائية

عند تنمية البكتريا اللاهوائية ، بالبرطمانات أو بالغرف اللاهوائية ، فإنه يوضع بداخل البرطمان أو الغرفة ، دليل مناسب Indicator قابل للأكسدة والإختزال ، للتأكد من توفر الظروف اللاهوائية فى البيئة أثناء التنمية .

ومن تلك الأدلة المستعملة فى التنمية اللاهوائية

- الريزازورين Resazurin ، وهو ذو لون أزرق فى وجود الأكسجين ، ويصبح عديم اللون تحت الظروف اللاهوائية ، وبعد إعادة أكسدته يتحول الى اللون الأحمر .
- أزرق المثيلين Methylene blue ، وهو ذو لون أزرق فى وجود الهواء ، ويصبح عدم اللون فى عدم وجود الأكسجين .

References **مراجع الباب السادس**

Cooper S. (1991). **Bacterial Growth and Division.** Academic Press, New York.,

Gerhardt P.; R.G.E. Murray; R.N. Costilow; E.W. Nester; W.A. Wood; N.R. Krieg and G.B. Phillips (eds.), 1981, **Manual of Methods for General Bacteriology.** Amer. Soc. Microbiol., Washington D.C.

Ingraham J.L.; O. Maaloe and F.C. Weidhardt (1983). **Growth of the Bacterial Cell.** Sinauer, Sunderland, Mass., USA.

Nester E.W.; C.E. Roberts; Nancy N. Pearsall; D.G. Anderson and Martha T. Nester (1998). **Microbiology.** 2nd Ed. McGraw-Hill Book Co. Inc., New York.

Schlegel H.G. (1995). **General Microbiology.** 7th **Ed.,** Cambridge Univ. Press, New York.

Starr M.P.; H. Stolp; H.G. Truper; A. Balows and H.G. Schlegel (eds.) 1981. **The Procaryotes: A Handbook on Habitats, Isolation and Identification of Bacteria.** Springer-Verlag, New York.

﴿الباب السابع﴾

المجموعات البكتيرية (تقسيم البكتريا)

المحتويـــات

(الباب السابع)

المجموعات البكتيرية (تقسيم البكتريا)
Bacterial Groups (Bacterial Classification)

تمهيـــــد

وضع البكتريا بين عالم الأحياء [١]

إن ترتيب الأوضاع التقسيمية للكائنات الحية ، هو عمل من صنع الإنسـان ، ويتـأثر ذلك العمل بما يتوفر لدى الانسان من معلومات ، ومايتطلبه من إحتياجات ، وبوجهة نظره فـي الموضوع ، والأسس التي يعتمد عليها في إجرائه لعمليات تقسيم تلك الأحياء ، هذا إضافة إلـى أن عملية تقسيم الأحياء إلى مجموعات ، وترتيب هذه المجموعات في فئـات تصنيفيـة ، هـي عملية معقدة ، وتعتمد على الكثير من المعلومات والتقنيات ، كما أنها تتطلب المراجعة المستمرة لما يتم ، مما يجعل عملية تقسيم الكائنات الى مجموعات ، ووضعها في مواضع تقسيمية ثابتـة بين الأحياء ، عملية شاقة بالنسبة لعلماء التخصص ، وتزداد الصعوبة عند تقسيم الكائنات الدقيقة التي تتميز عن غيرها من الأحياء ، بدقة حجمها ، وصعوبة تمييز مكوناتها الداخلية ، وبتداخل بعض صفاتها مع صفات أحياء أخرى .

ولفترة طويلة مضت ، كان العلماء ينظرون إلى الكائن الحي ، علـى أنـه نبـات أو حيوان ، وكان العلماء يضعون مايكتشفوه من كائنات دقيقة في المملكة النباتيـة أو الحيوانيـة ، حسب مدى قرب صفات تلك الكائنات الدقيقة المكتشفة ، بالصفات المتعارف عليـها فـي ذلـك الوقت ، لذلك فإننا نلاحظ أنه حتى منتصف القرن الماضي (العشرين) ، وذلك كما جاء بمرجـع برجي عام ١٩٤٨ **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 6th Ed., 1948** [٢]، فإن البكتريا وضعت باعتبارها نباتات وحيدة الخلية ، في طائفـة الفطريـات المنشـقة Class Schizomycetes ، التابعة لشعبة النباتات الثالوسـية [٣] Phylum Thallophyta ، التابعـة للمملكة النباتية ، أما البروتوزوا وماشابهها من كائنات ، فقد وضعت في المملكة الحيوانية .

وبتطور طرق الفحص ، فقد وضح أن البكتريا والطحالب الخضراء المزرقة (التي سميت فيمـا بعد بالبكتريا الخضراء المزرقة ، ثم سميت بالسيانوبكتريا) ، وضح أن لها تركيب خلوي متمـيز عن تركيب خلايا النباتات الثالوسية ، لذلك وضعت البكتريا والطحالب الخضراء المزرقـة فـي شعبة مستقلة عن النباتات الثالوسية ، سميت بأسم شعبة النباتات البدائية **Phylum Protophyta** ، التابعة للمملكة النباتية ، وذلك كما جاء في مرجع برجـي لعام ١٩٥٧ **Bergey's Manual, 7th Ed., 1957** [٢] ، و تضـم هذه الشعبة كلا من الفيروسات والريكتسيـا والبكتريا والبكتريا

---

[١] انظر موقع الميكروبات بين الأحياء ، بالباب الثاني .

[٢] C.A. Garrit (2001) .

[٣] النباتات الثالوسية Thallophyta ، كائنات بسيطة التركيب ، ليس لها جذر أو ساق أو أوراق أو أزهار ، ويتبعـها حسب تقسيم برجي لعام ١٩٤٨ كل من البكتريا والفطريات والطحالب .

الخضراء المزرقة . أما شعبة النباتات الثالوسية فقد إقتصرت على الفطريات والطحالب .

وكان العالم الألمانى *Haeckel, 1866 قد أقترح إنشاء مملكة ثالثة للأحياء الدقيقة ، بجانب المملكة النباتية والحيوانية ، تسمى مملكة الكائنات البدائية Kingdom Protista ، تضم كلا من البكتريا (وقد سماها البروتستا الدنيئة Lower Protista) ، والفطريات والطحالب والبروتوزوا (وقد سماها بالبروتستا الراقية Higher Protista) ، ولكن هذا الاقتراح لم يضع حلولا للإعتراضات الخاصة بتقسيم الأحياء الدقيقة .

ومع تطور طرق الفحص السيتولوجى ، وتقدم تقنيات دراسة المادة الوراثية بالخلايا ، فقد ظهر أن الأحياء عموما تتميز بنوعين متميزين من الخلايا ، هى الخلايا حقيقية النواة Eucaryotic cells ، والخلايا بدائية النواة Procaryotic cells ، وعلى أساس هذه الفروقات الموجودة فى التركيب الخلوى ، فقد وضعت البكتريا والسيانوبكتريا بسبب تركيبهما الخلوى المتميز ، فى مملكة مستقلة عن كل من المملكة النباتية والمملكة الحيوانية ، هى مملكة الكائنات بدائية النواة Kingdom Procaryotae وذلك كما جاء بمرجع برجى عام ١٩٧٤ *Bergey's Manual 8th Ed., 1974 ، أما الفيروسات فقد استبعدت من هذه المملكة ، وأصبح لها تقسيم آخر مستقل ، نظرا لأنها غير خلوية .

وفى الطبعات التالية من مرجع برجى وحتى آخر طبعة عام ٢٠٠١ ، المسماه *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2001 ، فقد أستقر وضع البكتريا ، فى مملكة البروكاريوتا .

ويلاحظ أن الدراسات على تقسيم الأحياء وخاصة للبكتريا لم يتوقف ، ولما كان الدنا DNA هو الذى يحدد صفات الأحياء ، فلقد إهتمت الدراسات فى مجال تقسيم البكتريا بالاتجاه الى دراسه الدنا كأساس دقيق لتقسيم البكتريا . واتخذت أولا نسبة G + C كأساس للتمييز بين أنواع هذه الكائنات . وقد اتضح أن اختلاف هذه النسبة يؤكد أن الكائنين المدروسين لاينتميان الى نوع species واحد . ولكن فى نفس الوقت فان تساوى نسبة G + C بين كائنين لايعنى بطريقة مؤكدة أنهما ينتميان لنفس الجنس ، مما أوضح الحاجة للبحث عن نظام آخر مُكمِّل ، يكون أكثر دقة ، يُمَكِّن المهتم بالدراسة من تمييز مجموعات البكتريا عن بعضها البعض.

ومع اكتشاف امكانية التهجين Hybridization بين سلاسل الدنا المتكاملة ، فقد استخدمت هذه التقنية فى الدراسات الخاصة بتقسيم البكتريا ، حيث اتضح أنه لايمكن حدوث تهجين بين سلاسل الدنا اذا ماوصل الاختلاف فى القواعد بينها الى مابين ١٠ - ٢٠% ، مما يجعل أن امكانية حدوث تهجين بين سلاسل دنا مجاميع من البكتريا ، يعتبر دليلا على مدى التقارب بينها، ولقد ظهر أن هذه التقنية جيدة فى دراسة التقارب بين البكتريا حتى مستوى النوع species ، أما المستويات التقسيمية الأعلى من ذلك ، أى مستوى الجنس والفصيلة والرتبة ,,, ، فان هذه التقنية لاتفى بالغرض .

ثم بينت الدراسات أن الرنا الرايبوسومى rRNA فى البكتريا (على وجه الخصوص 16S rRNA) ، محفوظ بالخلية لحد كبير من أية تغيرات ، مقارنة بالجينوم الذى يحدث به تغيرات مع الزمن ، مما يعنى أن التهجين بين الرنا الرايبوسومى والدنا rRNA-DNA hybridization يعطى امكانية دراسة مستويات التقسيم الأعلى من النوع ، كالجنس مثلا .

* Garrit (2001).

هذا بالنسبة لوضع البكتريا بين الأحياء ، أما بالنسبة لتقسيم الأحيــاء عمومــا ، فقــد ظهرت مقترحات كثيرة خاصة بذلك ، لعل أهمــها تقســيم هويتــاكر الــذى أقترحــه العــالم Whittaker R.H. عام ١٩٦٩ ، الذى قسم فيه الكائنات الحية إلى خمسة ممالك ، وذلك حسب

- البناء الخلوى للكائــن : وحيد الخلية ، أو عديد الخلايا .
- تركيب نواة خلية الكائن : بدائية النواه ، أو حقيقية النواه .
- طريقة تغذية الكائــن : تمثيل ضونى ، أو إمتصاص ، أو بلع

والممالك الخمسة لعالم الكائنات الحية ، حسب تقسيم هويتاكر ، هى

١- مملكة البدائيات Kingdom Monera ، مملكة المونيرا

وتشمل هذه المملكة الكائنات الحية وحيدة الخليــة ، بدائيــة النــواه ، التــى تتغــذى بالإمتصاص ، ومثلها البكتريا والسيانوبكتريا .

٢- مملكة الفطريات Kingdom Fungi

وتشمل هذه المملكة الكائنات الحية وحيدة الخليــة ، حقيقيــة النــواة ، التــى تتغــذى بالإمتصاص ، ومثلها الخمائر والاعفان والفطريات عديدة الأنوية .

٣- مملكة الكائنات البدائية Kingdom Protista ، مملكة البروتستا

وتشمل هذه المملكة الكائنات الحية وحيدة الخلية ، حقيقية النواة ، وتتغذى بــالإبتلاع أو بالإمتصاص ، ومثلها البروتوزوا .

ومن البروتستا مايقوم بالتمثيل الضونى مثل الطحالب الصغيرة .

٤- المملكة النباتية : Kingdom Plantae

وتشمل هذه المملكة الكائنات الحية عديدة الخلايا ، حقيقية النواة ، وتحتوى الخلايا على كلوروفيل ، وتقوم بالتمثيل الضونى ، وتتغــذى بالإمتصــاص ، ومثلــها الطحــالب الكبــيرة والحزازيات والسرخسيات والنباتات معراة البذور والنباتات مغطاة البذور .

٥- المملكة الحيوانية : Kingdom Animalia

وتشمل هذه المملكة الكائنات الحية عديدة الخلايا ، حقيقية النواه ، غير الممثلة للضــوء، وتتغذى بالإبتلاع ، وتضم الحيوانات اللافقارية والحيوانات الفقارية .

وعموما ، فإنه يلاحظ أن عدد الممالك بعالم الكائنات الحية ، مازال موضع خلاف بيــن العلماء ، فالبعض يضع الأحياء فى أربعة ممالك ، والبعض يضعها فى خمسة ، بل وهناك مــن يضعها فى ثمانية ممالك .

﴿الباب السابع – الفصل الأول﴾
تسمية البكتريا وتمييزها وتصنيفها

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة

المحتويـــات

الموضوع **الصفحة**

«الباب السابع – الفصل الأول»

تسمية البكتريا وتمييزها وتصنيفها
Nomenclature , Characterization and Taxonomy of Bacteria

تسمية البكتريا : Bacterial nomenclature

التسمية العلمية : Scientific nomenclature

يتم تسمية الكائن البكتيرى تسمية علمية ، بعد إتفاق المجتمع العلمى الدولى * على تلك التسمية طبقا لقواعد محددة ، وينشر الاسم العلمى لاسم البكتريا المتفق عليه ، فى المجلة العلمية المتخصصة المسماه International Journal of Systematic Bacteriology (Int. J. Syst. Bact.) ، وبذلك يصبح لكل نوع بكتيرى اسم واحد موثق ، ومتفق عليه عالميا .

وتستعمل اللغة اللاتينية فى التسمية العلمية ، لأن تلك اللغة هى التى كانت سائدة فى الماضى بين المتعلمين بأغلب الأقطار الأوروبية . ويخضع الاسم العلمى المتفق عليه لقواعد وهجاء اللغة اللاتينية ، ويكتب بحروف مائلة Italics ، تعبيرا عن مصدره الإيطالى Italica .

ويسمى الكائن طبقا لنظام التسمية الثنائية Binomial system of nomenclature ، الذى وضع أسسه عام ١٧٦٠ عالم النبات السويدى كارل لينيوس (Carl von Linne', Linnaeus Carolus, 1707-1778) ، فى كتابه الأنواع النباتية Species Plantarum .

ويتضمن الاسم العلمى تعريفاً بالبكتيره ، ويتكون الاسم من مقطعين

- **المقطع الأول : يشير الى الجنس** Genus (*pl.* Genera) ، ويكتب أوله بحرف كبير Capital ، وهو يعبر عن صفة من صفات الجنس ، أو عن إحدى مميزات الجنس الهامة ، أو يشير الى اسم مكتشف أفراد الجنس ، أو إلى اسم عالم له بحوث مرموقة فى مجال أنواع هذا الجنس ، مثل أسماء العلماء Escherich الألمانى ، Lister الانجليزى ، Pasteur الفرنسى ، Salmon الأمريكى ، و Shiga اليابانى .
- **المقطع الثانى : يشير الى النوع** species, sp. (*pl.* species, spp.) ، أو مايعرف بالصفة المتخصصة Specific epithet ، ويكتب بحروف صغيرة ، وهو يعبر عن صفة خاصة بصفات النوع كاللون ، أو خاصة بالوسط الذى يعيش فيه ذلك النوع ، أو بمرض يسببه ، أو باسم مكتشفه ... الخ .

---

* يتمثل ذلك فى الجمعية الدولية لتسمية البكتريا ، International Committee of Bacteriological Nomenclature ، وهى هيئة دولية من كبار أساتذة التخصص ، تعتمد تقسيم وتسمية الأنواع الجديدة من البكتريا التى يتكشفها الباحثون ، وذلك طبقاً للقواعد والأصول العلمية المحددة لذلك .

وعادة مايتبع الاسم العلمى للبكتريا ، اسم العالم الذى سمى هذه البكتيرة لأول مرة ، وقد يتبع اسم العالم ، السنة التى نشر فيها الاسم العلمى للمرة الأولى ، مثل *Pseudomonas marginalis*, Stevens, 1925 . وقد يعدل اسم البكتيره بعد ذلك بواسطة عالم أخر ، فيضاف اسم العالم الذى قام بهذا التعديل وسنة النشر .

وقد يضاف الى اسم النوع البكتيرى صفة خاصة به ، تميزه عن باقى أفراد النوع مثل *Streptococcus faecalis* var. *liquefaciens* ، وهذه الاضافة بعد اسم النوع تدل على أن هذه البكتيرة هى إحدى سلالات البكتريا السبحية البرازية ، التى تتميز عن غيرها من سلالات ذلك النوع ، بقدرتها على إسالة الجيلاتين .

وعند كتابة الاسم العلمى للبكتريا ، فان الاسم يكتب كاملا عندما يرد لأول مرة بالنص، فإذا ماتكرر ذكر الاسم ، فإنه يمكن إختصار اسم الجنس فقط إلى حرف أو أكثر مثل *Bacillus* التى تختصر عند تكرارها الى *B.* و *Pseudomonas* التى تختصر الى *Ps.* .

التسمية الدارجة : Common, colloquial, nomenclature

فى بعض الأحيان تستعمل أسماء عامة أو أسماء دارجة للإشارة الى اسم البكتريا وسرعة الدلالة عليها ، وهذه الأسماء غير علمية ولاينطبق عليها قواعد التسمية العلمية المتعارف عليها . وتستعمل الأسماء الدارجة فى التعامل اليومى العادى وليس فى النواحى العلمية .

وكأمثلة للتسمية الدارجة ، استخدام Colon bacillus إشارة إلى بكتريا القولون *Escherichia coli* ، أو استخدام Tubercle bacilli إشارة إلى بكتريا الدرن الرئوى *Mycobacterium tuberculosis* ، أو استخدام The Lactics ، إشارة إلى البكتريا المنتجة لحامض اللاكتيك ,

وقد يستعمل الأطباء والبكتريولوجيون ، اسم المرض للإشارة إلى اسم البكتريا المسببة للمرض ، وذلك كنوع من البساطة فى التعامل ، مثل استخدام كلمة Meningococcus التى تعنى كرويات سحائية ، وذلك للإشارة الى البكتريا المسماة *Neisseria meningitidis* ، المسببة لمرض الالتهاب السحائى .

تغير الأسماء :

نتيجة لتطور وتقدم المعلومات المتاحة عن البكتريا ، والتعرف المستمر على كائنات جديدة ، فإن المجموعات التصنيفية للبكتريا ، وأسماء أجناس وأنواع بعض البكتريا ، يحدث بها بعض التغيرات ، كما أن أسماء لأنواع جديدة من البكتريا تضاف . ومثالا على ذلك ، مايحدث من تغيرات لبعض أسماء البكتريا من طبعة لأخرى من الطبعات الخاصة بمرجع تقسيم برجى .

والجداول التالية [٧ (١)-١ ، و٧ (١)-٢] ، توضح أسماء بعض أنواع البكتريا التى تغيرت أسماؤها فى الطبعات الأخيرة من مرجع برجى ، عما جاء بالطبعات السابقة .

جدول ٧ (١)-١ : أسماء بعض أجناس وأنواع البكتريا التى حدث بأسمائها تعديل بطبعة برجى الاخيرة (مرتبة أبجديا حسب الأسماء الجديدة)* .

الاسم الجديد	الاسم القديم
Acetobacter aceti	*Mycoderma aceti*
Acidothiobacillus ferrooxidans	*Thiobacillus ferrooxidans*
Acidothiobacillus thiooxidans	*Thiobacillus thiooxidans*
Acinetobacter calcoaceticus	*Moraxella calcoaceticus*
Alcaligenes eutrophus	*Hydrogenomonas eutropha*
Actinoplanes	*Ampullariella*
Bartonella	*Rochalimaea*
Chlamydophila psittaci	*Chlamydia psittaci*
Chromatiaceae	Thiorhodaceae
Chromobacterium iodinum	*Pseudomonas iodina*
Clostridium oroticum	*Zymobacterium oroticum*
Clostridium perfringens	*Clostridium welchii*
Cyanobacteria	Blue-green algae
Enterobacter aerogenes	*Aerobacter aerogenes*
Enterococcus faecalis	*Streptococcus faecalis*
Enterococcus faecium	*Streptococcus faecium*
Flexibacter columnaris	*Chondrococcus columnaris*
Francisella tularensis	*Pasteurella tularensis*
Fusobacterium symbiosum	*Bacteroides symbiosus*
Geobacillus thermodenitrificans	*Bacillus thermodenitrificans*
Gluconobacter oxydans	*Acetomonas suboxydans*
Halobacillus halophila	*Sporosarcina halophila*
Halomonas	*Deleya*
Lactobacillus citrovorum	*Lactobacillus cremoris*
Lactococcus lactis subsp. *cremoris*	*Streptococcus cremoris*
Lactococcus lactis subsp. *lactis*	*Streptococcus lactis*
Leptospira interrogans	*Leptospira icterohaemorrhagiae*

*Ref :

- **DSMZ (2001).** Bacterial Nomenclature up - to - date, List 3/2001, 62 pp. Deutsche Sammlung von Microorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germany
- International Journal of Systematic Bacteriology (2000).
- International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (2000).

تابع جدول ٧ (١)-١ أسماء بعض أجناس وأنواع البكتريا التى حدث بأسمائها تعديـــل بطبعـــة برجى الاخيرة (مرتبة أبجديا حسب الأسماء الجديدة) .

الاسم الجديد	الاسم القديم
Magnetospirillum magnetotacticum	*Aquaspirillum magnetotacticum*
Megasphaera elsdenii	*Peptostreptococcus elsdenii*
Mesorhizobium loti	*Rhizobium loti*
Methanobacterium omelianskii	*Methanobacillus omelianskii*
Methylomonas	*Methanomonas*
Micrococcus luteus	*Sarcina aurantiaca*
Micrococcus luteus	*Sarcina flava*
Micrococcus luteus	*Sarcina lutea*
Micrococcus lysodeikticus *	*Sarcina lysodeikticus* *
Moraxella	*Branhamella*
Nitrosococcus oceanus	*Nitrosocystis oceanus*
Paenibacillus alvei	*Bacillus alvei*
Paracoccus denitrificans	*Micrococcus denitrificans*
Prevotella ruminicola	*Bacteroides ruminicola*
Propionibacterium acidi-propionici	*Propionibacterium pentosaceum*
Pseudomonas aeruginosa	*Pseudomonas pyocyanea*
Ralstonia solanacearum	*Pseudomonas solanacearum*
Rhodospirillaceae	Athiorhodaceae
Serratia marcescens	*Bacterium prodigiosum*
Sinorhizobium fredii	*Rhizobium fredii*
Sinorhizobium meliloti	*Rhizobium meliloti*
Streptococcus pneumoniae	*Diplococcus pneumoniae*
Streptococcus pneumoniae	*Pneumococcus pneumoniae*
Streptomyces	*Chainia*
Streptomyces	*Elytrosporangium*
Streptomyces	*Streptoverticillium*
Streptomyces paradoxus	*Actinosporangium violaceum*
Synechococcus nidulans	*Anacystis nidulans*
Veillonella alcalescens	*Micrococcus lactilyticus*
Vibrio	*Beneckea*
Vibrio cholerae	*Vibrio comma*
Xanthobacter autotrophicus	*Corynebacterium autotrophicum*
Yersinia pestis	*Pasteurella pestis*

* سميت كذلك بواسطة فلمنج ، لحساسيتها العالية لانزيم اللايسوزيم

جدول ٧ (١)-٢ : أسماء بعض أجناس وأنواع البكتريا التى حدث بأسمائها تعديل بطبعة برجى الاخيرة (مرتبة أبجديا حسب الأسماء القديمة)*

الاسم القديم	الاسم الجديد
Acetomonas suboxydans ...	*Gluconobacter oxydans*
Actinosporangium violaceum ...	*Streptomyces paradoxus*
Aerobacter aerogenes ...	*Enterobacter aerogenes*
Ampullariella ...	*Actinoplanes*
Anacystis nidulans ...	*Synechococcus nidulans*
Aquaspirillum magnetotacticum ...	*Magnetospirillum magnetotacticum*
Athiorhodaceae ...	Rhodospirillaceae
Bacillus alvei ...	*Paenibacillus alvei*
Bacillus thermodenitrificans ...	*Geobacillus thermodenitrificans*
Bacterium prodigiosum ...	*Serratia marcescens*
Bacteroides ruminicola ...	*Prevotella ruminicola*
Bacteroides symbiosus ...	*Fusobacterium symbiosum*
Beneckea ...	*Vibrio*
Blue-green algae ...	Cyanobacteria
Branhamella ...	*Moraxella*
Chainia ...	*Streptomyces*
Chlamydia psittaci ...	*Chlamydophila psittaci*
Chondrococcus columnaris ...	*Flexibacter columnaris*
Clostridium welchii ...	*Clostridium perfringens*
Corynebacterium autotrophicum ...	*Xanthobacter autotrophicus*
Deleya ...	*Halomonas*
Diplococcus pneumoniae ...	*Streptococcus pneumoniae*
Elytrosporangium ...	*Streptomyces*
Hydrogenomonas eutropha ...	*Alcaligenes eutrophus*
Lactobacillus cremoris ...	*Lactobacillus citrovorum*
Leptospira icterohaemorrhagiae ...	*Leptospira interrogans*
Methanobacillus omelianskii ...	*Methanobacterium omelianskii*
Methanomonas ...	*Methylomonas*
Micrococcus denitrificans ...	*Paracoccus denitrificans*
Micrococcus lactilyticus ...	*Veillonella alcalescens*
Moraxella calcoaceticus ...	*Acinetobacter calcoaceticus*
Mycoderma aceti ...	*Acetobacter aceti*

* المراجع : أنظر تذيل ص ٣٥٩

تابع جدول ٧ (١)-٢ : أسماء بعض أجناس وأنواع البكتريا التى حدث بأسمائها تعديل بطبعـــة برجى الاخيرة (مرتبة ابجديا حسب الأسماء القديمة) .

الاسم القديم	الاسم الجديد
Nitrosocystis oceanus	*Nitrosococcus oceanus*
Pasteurella pestis	*Yersinia pestis*
Pasteurella tularensis	*Francisella tularensis*
Peptostreptococcus elsdenii	*Megasphaera elsdenii*
Pneumococcus pneumoniae	*Streptococcus pneumoniae*
Propionibacterium pentosaceum	*Propionibacterium acidi-propionici*
Pseudomonas iodina	*Chromobacterium iodinum*
Pseudomonas pyocyanea	*Pseudomonas aeruginosa*
Pseudomonas solanacearum	*Ralstonia solanacearum*
Rhizobium fredii	*Sinorhizobium fredii*
Rhizobium loti	*Mesorhizobium loti*
Rhizobium meliloti	*Sinorhizobium meliloti*
Rochalimaea	*Bartonella*
Sarcina aurantiaca	*Micrococcus luteus*
Sarcina flava	*Micrococcus luteus*
Sarcina lutea	*Micrococcus luteus*
Sarcina lysodeikticus•	*Micrococcus lysodeikticus*•
Sporosarcina halophila	*Halobacillus halophila*
Streptococcus cremoris	*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*
Streptococcus faecalis	*Enterococcus faecalis*
Streptococcus faecium	*Enterococcus faecium*
Streptococcus lactis	*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*
Streptoverticillium	*Streptomyces*
Thiobacillus ferrooxidans	*Acidothiobacillus ferrooxidans*
Thiobacillus thiooxidans	*Acidothiobacillus thiooxidans*
Thiorhodaceae	Chromatiaceae
Vibrio comma	*Vibrio chloerae*
Zymobacterium oroticum	*Clostridium oroticum*

• سميت كذلك بواسطة فلمنج ، لحساسيتها العالية لانزيم اللايسوزيم

تصنيف عالم البكتريا : Taxonomy of Bacterial World

ماهية التصنيف

التقسيم الحيوى للبكتريا Biological classification ، أو مايعرف بعلم التصنيف البكتيرى Bacterial Taxonomy ، هو العلم الخاص بتسمية البكتريا Nomenclature وتقسيمها Classification ، أى وصف البكتريا وتعريفها وترتيبها فى فئات (مجاميع) تصنيفية Taxa (*Sing.* Taxon) ، كالطوائف Classes والرتب Orders والفصائل Families والأجناس Genera والأنواع Species ... ، وذلك طبقا لقواعد ومعايير علمية محددة ، متفق عليها . إذ يخضع الكائن المكتشف حديثا ، لمجموعة من الدراسات المستفيضة ، ويُعرَّف ، ثم يطلق عليه الاسم العلمى المناسب ، ويوضع فى فئته التصنيفية ، وينشر مايتعلق به من معلومات بالدوريات المتخصصة على المجتمع العلمى ، للتعرف على ماتم ، والاقرار به .

ويعتبر علم تصنيف البكتريا ، من أكثر أنواع العلوم تغيرا ، وقد كان ومازال ، عرضة للتعديل والإضافة والتغيير ، بسبب مايتم إضافته باستمرار من معلومات جديدة خاصة بتلك الكائنات الدقيقة .

ويتوقف التصنيف الناجح على التعاون المثمر بين عالم البكتريا وعلماء العلوم الحياتية (البيولوجية) الأخرى ، مع التأكيد عند إجراء التصنيف ، على ضرورة استخدام طرق فحص موحدة بين الباحثين ، تتم تحت ظروف نمو عادية وموحدة للبكتريا موضع الدراسة ، وذلك حتى لايحدث تضارب فى النتائج المتحصل عليها .

تُجمَّع السلالات المتشابهة من البكتريا فى نوع Species ، وتجمع الأنواع المتشابهة فى جنس Genus* ، وتجمع الأجناس المتشابهة فى فصيلة (عائلة) Family التى عادة ما ينتهى اسمها بـ aceae ، وتجمع الفصائل المتشابهة فى رتبة Order والتى عادة ماينتهى إسمها بـ ales... ، وتجمع الرتب فى طائفة Class ، ثم تجمع الطوائف فى عشيرة (أو قسم) Phylum (Division) ، وأخيرا تجمع العشائر المختلفة مع بعضها لتكون فى النهاية مملكة الكائنات بدائية النواة Kingdom Procaryotae ، والتى تشكل مع الممالك الأخرى الفطرية والبروتستا والنباتية والحيوانية عالم الكائنات الحية .

مثال تصنيفى للبكتريا

عادة مايشتق اسم الفصيلة (العائلة) من اسم الجنس النمطى Type genus ، مع إضافة المقطع aceae – إلى اسم الجنس، مثل اسم الفصيلة Lactobacillaceae المشتق من اسم الجنس *Lactobacillus* ، واسم الفصيلة Streptomycetaceae التى تنسب الى اسم الجنس *Streptomyces* . ويشتق اسم الرتبة من اسم الفصيلة ، مع استبدال المقطع aceae ، بالمقطع ales مثل Actinomycetales المشتقة من اسم الفصيلة Actinomycetaceae .

---

* قد يكون الجنس Genus وحيد النوع Monotypic أى يشمل نوعا واحدا فقط ، أو يكون الجنس عديد الأنواع Polytypic ، أى يشمل عدة أنواع .

وكمثال لتلك الفئات التصنيفية ؛ نورد النموذج التالى

Kingdom Procaryotae
Division Gracilutes
Class Scotobacteria
Order Spirochaetales
Family Spirochaetaceae
Genus *Spirochaeta*
Species *S. halophila*

أهمية التصنيف

يُمكّنّا التصنيف من التعرف على الكائنات البكتيرية ، ومعرفة الأنواع الجديدة منـــها ، ووضع الكائنات المتشابهة مع بعضها فى مجاميع ، كل مجموعة لها مايميزها عــن الأخــرى ، كما يمكننا التصنيف من مقارنة الأنواع ببعضها ، لمعرفة درجات التشابه ودرجــات الإختــلاف بينها ، ومعرفة دور كل منها فى الحياة ، للاستفادة من النافع ، والوقاية من الضار .

تطور علم التصنيف

البكتريا – كما ذكر سابقا ، كائنات حية دقيقة ، بدائية النواة ، ، خالية من كلوروفيل أ وبعض أنواع البكتريا ممثلة للضوء ولكنها تحتـــوى علـــى صبغـــات ضوئيـــة أخـــرى غـــير كلوروفيل أ ، الذى يوجد بالسيانوبكتريا وجميع الكائنات الأخرى الممثلة للضوء عدا البكتريا .

وفى إطار هذا التعريف الواسع للبكتريا ، فقد نمى علم تصنيف البكتريا منذ أكثر مـــن مائة عام ، وأصبح عرضة للإضافة والتعديل ، باكتشاف كائنات جديـــدة ، أو بتوفـــر المزيـــد والمزيد من المعلومات التى لم تكن متاحة من قبل ، وتأتى تلك المعلومات نتيجة التقدم فى طرق الفحص المعملى ، والتطور فى تقنيات الفحص المجهرى ، وفى مجـــالات الكيميـــاء الحيويـــة والفيزياء الحيوية والعلوم الوراثية وعلوم المناعة .

ونظرا لأن الدراسات الوراثية صعبة وتحتاج الى تقنيات متقدمة والى خـــبرة عاليـــة ، كما أن الانساب الحقيقية بين البكتريا مازال بعضها غامضا ، فإن علم تصنيف البكتريـــا ، كـــان ينمو ويتطور أساسا على دلائل وصفية Descriptive keys تتعلق بخصائص البكتريا العامـــة ، وتستخدم هذه الدلائل فى تعريف البكتريا ، وفى وصف الأنواع الجديدة منها .

غير أنه بتقدم التقنيات الخاصة بالوراثة الجزيئية ، فقد بـــدأ يتجـــه التقســـيم الحديـــث للبكتريا ، كما جاء فى مرجع برجى لعام ٢٠٠١ إلى الاعتماد على الأسس التنظيمية التصنيفيـــة Systematic ، أكثر من اعتماده على الأسس الوصفية Descriptive ، وذلك لإجراء عمليـــات التصنيف البكتيرى .

ومن أسس الوراثة الجزيئية التى يعتمد عليها التقسيم الحديث للبكتريـــا

- اختبار مدى التشابه بين دنا الكائنات المدروسة DNA Homology
- التهجين بين جزيئات الدنا DNA-DNA hybridization
- دراســـة تتـــابع النيوكليوتيـــدات فـــــى الرنـــــا الرايبوســـــومى rRNA ، من نوع 16S or 5S Nucleotide sequence of ribosomal RNA.

الخصائص الرئيسية العامة للبكتريا : Major characteristics of bacteria

لكى نتمكن من تعريف البكتيرة ووضعها فى مجموعتها التقسيمية الصحيحة ، يجب أولا معرفة خواصها . ولأنه من الصعب دراسة خواص بكتيرة فردية واحدة لصغر حجم الخلية المتناهى ، فإننا ندرس خواص البكتريا فى مزرعة نقية* Pure culture, Axenic culture ، أى مزرعة خالية من الكائنات الملوثة ومن المواد الغريبة ، ولكنها تحتوى على ملايين الأفراد ، التابعة للنوع الواحد المطلوب ، النامية من خلية واحدة ، تحت ظروف مناسبة .

وتقع الخواص الرئيسية العامة للبكتريا التى يجب التعرف عليها ، للمساعدة فى تعريف البكتريا ، فى المجموعات التالية من الخصائص

١ - الخواص المورفولوجية : Morphological characteristics

ويشمل ذالك شكل الخلية البكتيرية ، حجمها ، تركيبها ، نظم تجمعها ، تفاعلات الصبغ ، الحركة ، الأسواط ونظام تجمعها ، التجرثم من حيث شكل الجرثومة وحجمها وتركيبها ، وموضعها بالخلية الخضرية .

ونظرا لصغر حجم البكتريا ، فإن فحصها يتطلب مجهر مركب ذو عدسات زيتية ، يصل التكبير به لحوالى ألف . كما يستعان بالمجهر الالكترونى لمعرفة التفاصيل الدقيقة الخاصة بتركيب خلية البكتريا ومكوناتها .

٢- الخواص الكيميائية : Chemical characteristics

ويشمل ذلك التركيب الكيميائى النوعى والكمى لمكونات كل جزء من أجزاء الخلية . فلكل نوع بكتيرى تركيبه الكيميائى المميز له ، على سبيل المثال ، فإن مركبات عديدات التسكر الليبيدية Lipopolysaccharides تعتبر مكونات مميزة لجدر الخلية البكتيرية السالبة لصبغة جرام ، وليس للبكتريا الموجبة لصبغة جرام ، كما أن الكثير من جدر خلايا البكتريا الموجبة لصبغة جرام تحتوى على حامض تيكوييك Teichoic ، وهذا الحامض لايوجد فى جدار خلايا البكتريا السالبة لصبغة جرام .

٣- الخواص المزرعية : Cultural characteristics

تشمل تلك الخواص الاحتياجات الغذائية (مواد معدنية ، مواد عضوية ، عوامل نمو ... الخ) ، والظروف الفيزيائية (أكسجين ، حرارة ، ق يد ... الخ) اللازمة للنمو ، وكذلك طبيعة نمو البكتريا فى المزرعة السائلة وفى المزرعة الصلبة ، وماتفرزه من صبغات .

من حيث طبيعة نمو البكتريا فى المزرعة ، فإن لكل نوع بكتيرى طبيعته المميزة له فى النمو ، ففى المزرعة السائلة قد يكون النمو سطحيا كغشاء Pellicle ، أو معلقا بالبيئة Suspension ، أو راسبا Sediment بالقاع .

---

* أنظر المزرعة النقية ص ٣٤٣ .

وفى المزرعة الصلبة ، فإن البكتريا تكون مستعمرات Colonies ، ويعتبر حجم المستعمرة وشكلها وقوامها ولونها وتركيبها ... الخ ، من الخصائص المميزة للنوع البكتيرى النامى .

٤ – الخواص الأيضية : Metabolic characteristics

تشمل تلك الخواص المسارات الكيميائية المختلفة ، الخاصة بطرق الأيض الغذائى للبكتريا ، التى تمكنها من الحصول على مايلزمها من طاقة (من مصدر ضوئى أو من مواد غير عضوية أو من مواد عضوية) ، كما تشمل تلك الخواص طرق استخدام تلك الطاقة المتحصل عليها ، لتكوين مكونات الخلية ومنتجاتها ، وطرق تنظيم التفاعلات الكيميائية الخاصة بالأيض الغذائى .

٥ – الخواص الأنتجينية : Antigenic characteristics

يشمل ذلك التفاعلات المتخصصة التى تتم بين أنتجينات أجزاء الخلية البكتيرية وماتفرزه من أجسام مضادة . على سبيل المثال يمكن التمييز بين سلالات بكتريا التيفود بخواصها الأنتجينية .

٦– الخواص الوراثية : Genetic characteristics

يشمل ذلك الدراسات الخاصة بحامض الدنا DNA الكروموسومى والبلازميدى وكذلك الرنا الرايبوسومى .

فتركيب حامض الدنا الكروموسومى صفة ثابتة ومميزة لكل نوع بكتيرى ، ويستخدم ذلك فى عمليات التقسيم البكتيرى ، وذلك من حيث

* تركيب القواعد النتروجينية بحامض الدنا
  DNA base composition, % G+C content of DNA
  وذلك بتقدير النسبة المئوية للجوانين + السيتوزين بحامض الدنا
* تتابع قواعد النيوكليوتيدات بحامض الدنا
  Sequence of nucleotide bases in the DNA ، فهذا التتابع ثابت بالنسبة للنوع .
* معرفة مدى التشابه الموجود فى تتابع النيوكليوتيدات بين دنا الأنواع المختلفة DNA homology .
* التهجين مابين دنا الأنواع البكتيرية ، DNA-DNA hybridization ، لمعرفة مدى القرابة بين الأفراد حتى مستوى النوع species .

وبالاضافة إلى دنا الكروموسومات ، فقد يوجد ببعض الخلايا البكتيرية بلازميدات ، وهذه تضيف مميزات خاصة للخلية البكتيرية الموجودة بها ، تفيد فى تقسيم البكتريا ، مثل القدرة على إفراز سموم ، ومقاومة المضادات الحيوية ... الخ .

كما أن دراسة تتابع قواعد النيوكليوتيدات فى الرنا الرايبوسومى rRNA ، من نوع 16S ، تفيد فى عمليات التعريف والتمييز بين مستويات التقسيم ، الأعلى من مستوى النوع species .

٧- الخواص البيئية : Ecological characteristics

يشمل ذلك الموطن التى تعيش فيه البكتريا ، وتواجدها فى الطبيعة بالأوساط البيئية المختلفة (كالهواء والمياه والأراضى والأغذية ... الخ) ، والعلاقات المتبادلة بين الأنواع وبعضها ، من تعايش أو تضاد .

٨ – القدرة الإمراضية : Pathogenicity

يشمل ذلك قدرة البكتريا على إحداث أمراض بالنبات أو الحيوان أو الانسان أو حتى بالكائنات الدقيقة الأخرى .

تعريف البكتريا : Identification

لتعريف بكتيرة ما وتسميتها ، يجب أولا عزلها والحصول عليها بحالة نقية ، ثم تحديد وضعها التقسيمى ، وبعد أن يتم ذلك ، تحدد مجموعة من الخواص المميزة لهذه البكتيرة التى تم التعرف عليها ، على أن تكون خواصا سهلة الاختبار (مثل الشكل ، تأثير الصبغ ، تخمير السكريات ، إختبارات بيوكيميائية ، ... الخ) ، تمكن فى المستقبل أى باحث أخر من إجرائها بسهولة ، للتعرف على مثل هذه البكتيرة .

ويساعد فى تعريف البكتريا ، عموما ، استخدام الطرق المتعددة الاختبارات الدقيقة الحجم ، ذات المجموعات Kits متعددة الأقسام ، كما يساعد أيضا فى التعريف ، إتباع ماهو موجود بجداول التعريف Identification tables ، حيث أن هذه الجداول تحتوى على الخصائص المطلوب فحصها لتعريف بكتيرة ما [أنظر جدول ٧ (١)-٣] ، وهى خصائص مرتبة بطريقة مركزة وبشكل متسلسل ، توجه الباحث لما يقوم به من إختبارات ، وتوفر له وقته وجهده .

ومن المصطلحات العلمية المستخدمة فى تعريف أو تصنيف البكتريا

- **النوع : Species**

النوع Species هو مجموعة أفراد بكتيرية من صنف واحد ، حيث تكون جميع أفراد المجموعة ذات صفات واحدة متشابهة ، ومن الناحية العملية قد لايحدث ذلك ، حيث نجد فى المزرعة النامى بها نوع واحد معين من البكتريا ، نجد خلايا طافرة ذات صفات مختلفة عن ذلك النوع المنزرع، من حيث الصبغ مثلا أو مسار الأيض الغذائى أو الخواص الأنتجينية ... الخ ، لأن المزرعة النامية تحتوى على ملايين الخلايا ذات أجيال وأعمار متعددة ، ويحتمل حدوث تغيرات فى صفات بعض أفرادها الناتجة ، والصفات الجديدة المكتسبة قد تكون مؤقتة أو تكون مستديمة ، مما قد ينظر الى الأفراد الجديدة الناتجة على أنها سلالة جديدة .

النوع النمطى ، النوع المرجع : Type species

النوع النمطى هو النوع الممثل للجنس Genus ، وهو عبارة عن أول نوع species تم وصفه من هذا الجنس وأخذت الصفات الخاصة به ، وأصبحت هى الصفات المميزة لأفراد النوع ، وعلى ذلك فإن النوع النمطى يحمل كل صفات النوع الخاصة بالجنس ، وهو يعتبر النوع المرجع الذى تقارن به صفات جميع الانواع الأخرى ، قبل ضمها لنفس الجنس .

جدول : ٧ (١)- ٣ : الاختبارات المستخدمة لتعريف بعض مجموعات البكتريا[1] .

الاختبارات	عصوى طويل		عصوى قصير						كروى		
	Clostridium[3]	*Bacillus*	*Pseudomonas*	*Serratia*	*Alcaligenes*[2]	*Proteus*	*E.aerogenes*	*E. coli*	*Micrococcus*	*Streptococcus*	*Staphylococcus*
درجة حرارة التحضين	٣٧°م	٣٠°م	٣٠°م	٣٠°م	٢٠°م	٣٠°م	٣٧°م	٣٧°م	٣٠°م	٣٧°م	٣٧°م
صبغة جرام والشكل	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
الحركة	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
تخمر الكربوهيدرات	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
إسالة الجيلاتين	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
التفاعل مع لبن عباد الشمس	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
اختبارات الكتاليز	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
الحاجة للأكسجين	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
النمو في المرق المغذى	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
شكل المستعمرة	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
النمو على بيئة مرق مستخلص الخميرة[1]							X	X			
إختبار الاندول							X	X			
اختبار MR-VP							X	X			
اختبار استخدام السترات						X					
اختبار اليوريز				X							
اختبار النمو على اجار المانيتول المالح			X								
اختبار الاكسيديز			X								
اختبار صبغ الجراثيم	X	X									
تحليل النشادر		X									
تحليل الكازيين		X									
النمو على مرق الثيوجليكولات	X										

(1) رغم أن كثيرا من البكتريا ينمو جيدا على بيئات مستخلص اللحم (مثل المرق والأجار المغذى) ، إلا أن بعض البكتريا مثل Streptococci : تتطلب بيئة أكثر غنى للنمو الجيد مثل : بيئة منقوع اللحم ، وبيئة مرق مستخلص الخميرة .

(2) يتميز ميكروب *A. viscolactis* بقدرته على إحداث لزوجة شديدة فى اللبن Ropiness (لبن مخاطى) ، اغمس ابرة التلقيح فى سطح مزرعة لبن عباد الشمس ، ولاحظ القوام المخاطى الذى يلتصق بالابرة عند سحبها .

(3) اغلى كل البيئات السائلة لمدة ١٠ دقائق واتركها لتبرد قبل التلقيح بالـ *Clostridium* .

• المرجع : الكائنات الدقيقة عمليا (١٩٨٩) ، تأليف سيلى وفان ديمارك ، ترجمة سعد زكى وعبد الوهاب عبد الحافظ ومحمد الصاوى مبارك ، الدار العربية للنشر والتوزيع ، مدينة نصر ، القاهرة .

وعادة ماتحفظ مزارع النوع النمطى فى مؤسسات خاصة مؤهلة لذلك منها

- American Type Culture Collection, ATCC, Parklawn Drive, Rockville, Maryland, USA.
- Cairo Mircen, CAIM. Faculty of Agriculture, Ain-Shams Univ., Cairo, Egypt.
- Centraalbureau voor Schimmelcultures, Ag Baarn, Netherlands.
- Type Culture Collection, Washington, D.C.

• **نموذج نمطى : Type specimen**

هو النوع البكتيرى species ، الذى يتفق عليه المصنفون ليكون النموذج المرجعى ، فى وصف وتسمية النوع البكتيرى الجديد .

• **السلالة : Strain**

يستعمل تعبير سلالة كثيرا فى الميكروبيولوجى ، والسلالة هى نمط يتكون فى مزرعة نقية ، ناتج من نوع بكتيرى واحد ، والسلالات الناتجة من مزرعة واحدة أو مأخوذة من موقع معين ، متشابهة فيما بينها ، أو قد تختلف عن بعضها فى صفة واحدة أو فى أكثر من صفة . ويستفاد من هذه السلالات النمطية الناتجة فى نواحى تطبيقية وتجريبية .

وتعرف السلالة البكتيرية ذات الصفات الثابتة المميزة للنوع باسم **سلالة نمطية Type strain** ، قد تحفظ هذه السلالات النمطية فى مؤسسات خاصة ، مثل تلك المؤسسات التى ذكرت فى حالة حفظ النوع النمطى .

تعدد سلالات النوع الواحد

قد يكون للنوع البكتيرى الواحد عدة سلالات ، Varieties or Strains ، لكل سلالة مايميزها من صفات عن صفات السلالة الأخرى ، ويحدث ذلك عند وجود إختلافات بسيطة فى الصفات بين أفراد النوع الواحد ، لاتكفى لوضعها فى نوع مستقل بذاته .

وعند تعدد الصفات بين سلالات النوع الواحد ، فإن تلك السلالات تقسم حسب صفاتها إلى

- **سلالات حيوية (.Biovar (Bv** ، إذا كانت الاختلافات بينها فى الصفات البيوكيميائية أو الفسيولوجية
- **أو سلالات سيرولوجية (.Serovar (Sv** ، إذا كانت الاختلافات بينها فى الصفات الأنتجينية
- **أو سلالات مرضية (.Pathovar (Pv** ، إذا كانت الاختلافات بينها فى صفاتها الإمراضية بالنسبة لبعض العوامل .
- **أو سلالات مورفولوجية (.Morphovar (Mv** ، اذا كانت الاختلافات بينها فى الصفات الشكلية
- **أو سلالات فاجية (.Phagovar (Phv** ، حسب قابلية السلالة للتحلل بفاج معين .

النسيلة (الجمع نسائل) ، كلون Clone

النسيلة هى مستعمرة بكتيرية ذات نسل متماثل ، نتجت من خلية واحدة ، تكاثرت لاجنسيا بالانشطار الثنائى . وفى حالة خلايا حقيقيات النواة فإن النسيلة تنتج بالانقسام الميتوزى .

وكثيرا ماتستعمل نسائل خلايا أنسجة الثدييات ، فى المزارع النسيجية الخاصة بالدراسة الفيروسية .

نظم تقسيم البكتريا : Classification schemes of Bacteria

استخدمت نظم عديدة لتقسيم البكتريا بدأت منذ عام ١٨٧٢ بواسطة العالم Cohn ، الذى إعتمد فى نظامه التقسيمى على الوصف المورفولوجى للبكتريا . وتطورت نظم التقسيم منذ ذلك الحين ، وأصبحت تعتمد الآن على مجموعة من المعايير العلمية الدقيقة التى تؤدى الى تحديد صفات الكائن ووضعه التقسيمى . ويشترط فى تلك المعايير الثبات والتميز والوضوح ، ومن هذه المعايير صفات الكائن المورفولوجية والكيميائية والمزرعية والأيضية ونوعية التكاثر ، والخصائص الأنتجينية والوراثية والبيئية والإمراضية ، التى ذكرت سابقا .

وقد ظهر أخر نظام تقسيمى للبكتريا فى مرجع برجى بطبعته الثانية لعام ٢٠٠١ * ، وقد ظهر من هذا المرجع المجلد الأول حتى كتابة هذه السطور ، وجارى استكمال باقى مجلداته الخمس .

نظام تقسيم برجى : Bergey's system

تعتمد النظم التقسيمية الخاصة بالبكتريا ، المستخدمة الآن بواسطة أغلب العاملين فى مجالات علوم البكتريولوجى ، على ماوضع أسسه علماء مرموقين ، على رأسهم Bergey, Breed and Harrison ، وقد سجلت هذه الأسس فى مرجع يسمى Bergey's Manual of Determinative Bacteriology، الذى ظهرت طبعته الأولى عام ١٩٢٣ ، وتوالت طبعاته المعدلة بعد ذلك تباعا ، إلى أن ظهرت طبعته التاسعة عام ١٩٩٤ .

ثم ظهر ذلك المرجع باسم Bergey's Manual of Systematic Bacteriology ، وكانت طبعته الثانية عام ٢٠٠١ ، وذلك بعد أن تحولت الأسس المستخدمة فى التصنيف ، من الأسس الوصفية Descriptive ، إلى الأسس التنظيمية التصنيفية Systematic .

وقد شارك فى إعداد طبعات هذا المرجع المئات من علماء البكتريا المتميزين من كل أنحاء العالم ، ساهم كل منهم بما لديه من معلومات وخبرات عن المجموعة البكتيرية المتخصص بها .

ويعتبر مرجع برجى ، عملا شبه متكامل عن تصنيف البكتريا ، يلقى قبولا واسعا من أغلب العاملين فى مجالات البكتريولوجى ، فهو يضم أسماء البكتريا ، ووصفا لها ، وبيانا

---

* **Garrit G.M. (Editor in Chief) (2001). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2nd Ed., Springer, New York.**

بمميزاتها ، وتحديدا لوضعها فى فئتها التصنيفية بقدر الإمكان ، مع شرح للمفاتيح الدالـــة علـــى تعريف وتقسيم الانواع الجديدة من البكتريا .

وفى الطبعة التاسعة من مرجع برجى الصادرة عـــام ١٩٩٤ ، فقــد قســمت مملكـة البروكاريوتا إلى أربعة أقسام رئيسية هى :

- بكتريا حقيقية موجبة لصبغة جرام Eubacteria, G+ ve bacteria
- بكتريا حقيقية سالبة لصبغة جرام Eubacteria, G-ve bacteria
- بكتريا بدون جدار خلوى Bacteria without cell wall, e.g. Mollicutes
- بكتريا الأركيو ، الأركيوبكتريا* Archaeobacteria

وقسمت الأقسام الأربعة السابقة الى ٣٥ مجموعة Groups ، وقسمت المجـــاميع الـــى أجناس وأنواع ، وكما ذكر سابقا ، فإن نظم تقسيم برجى لما قبل عام ٢٠٠١ ، تعتمد أساساً على دلائل وصفية ، لذلك فان التركيز فى مرجع برجى لعام ١٩٩٤ قائم علـــى الأجنـــاس والأنـــواع البكتيرية .

وسنورد فى الفصل الثانى من هذا الباب (السابع) ، تعريفا مبسطا بـــأهم المجـــاميع والأجناس والأنواع البكتيرية ، حسب نظام برجى لعام ١٩٩٤ ، المتوفر لدينا كاملا حتـــى الآن ، لأن مرجع برجى لعام ٢٠٠١ لم يصدر منه حتى كتابة هذه السطور سوى مجلدا واحدا فقط مـــن خمس مجلدات .

وفى لمحة سريعة لما جاء بالمجلد الأول لمرجع برجى لعام ٢٠٠١ ، ســـنجد أن هـــذا المرجع أعتمد فى نظامه التقسيمى ، على الخصائص الوراثيـــة للبكتريـــا ، خاصـــة مـــايتعلق بتتابعات الرنا الرايبوسومى 16S rRNA ، ومن هذه الدراسات فقد وضح أن الكائنات بدائيـــة النواة تنقسم إلى مجموعتين متميزيتين Two Domains ، هما

١- مجموعة الأركيوبكتريا (البكتريا العتيقة ، Archaea) **1- Domain Archaeobacteria**

وتضم هذه المجموعة شعبتين هما

a. Phylum Crenarchaeota

b. Phylum Euryarchaeota

٢- مجموعة البكتريا (البكتريا الحقيقية ،Eubacteria) **2- Domain Bacteria**

وتضم هذه المجموعة الأقسام التالية

---

* تضم بكتريا الأركيو ، مجموعات محددة ذات صفات خاصة ، مثل البكتريا المنتجة لغاز الميثان ، والبكتريا المحبة للملوحة إجباراً .

- Gram negative bacteria
- Gram positive bacteria
- Actinobacteria
- Cyanobacteria
- Anoxygenic photobacteria
- Naked bacteria (without cell wall as *Mycoplasma*)

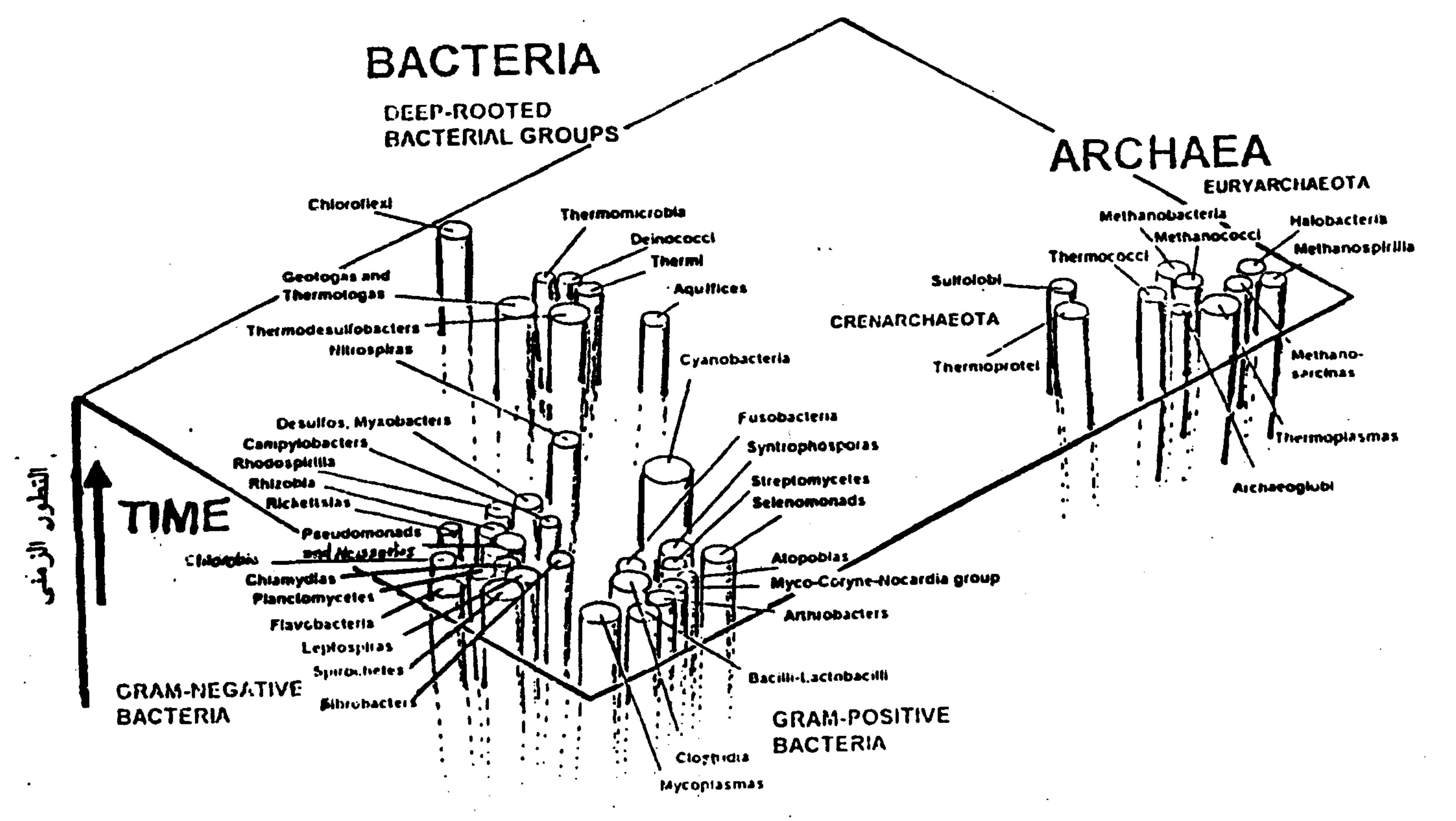
وقد قسمت كل مجموعة بكتيرية بمرجع برجي لعام ٢٠٠١ ، إلى فئات تصنيفية ، تضم ٢٣ شعبة Phyla ، وهذه الشعب قسمت الى طوائف Classes ، ثم الى رتب Orders ، والى فصائل Families ، والى أجناس Genera ، والى أنواع Species ، وقد قسمت بعض الطوائف إلى تحت طوائف Sub-classes ، وبعض الرتب الى تحت رتب Sub-orders ... وهكذا .

ويوضح الجدول التالى ، التسلسل التقسيمي لأحد أنواع البكتريا ، *Actinomyces bovis** .

الفئة (الوحدة) التقسيمية		الاسم
Domain	مجموعة	Bacteria
Phylum	شعبة	Actinobacteria
Class	طائفة	Actinobacteria
Subclass	تحت طائفة	Actinobacteridae
Order	رتبة	Actinomycetales
Suborder	تحت رتبة	Actinomycineae
Family	فصيلة	Actinomycetaceae
Genus	جنس	Actinomyces
Species	نوع	*Actinomyces bovis*

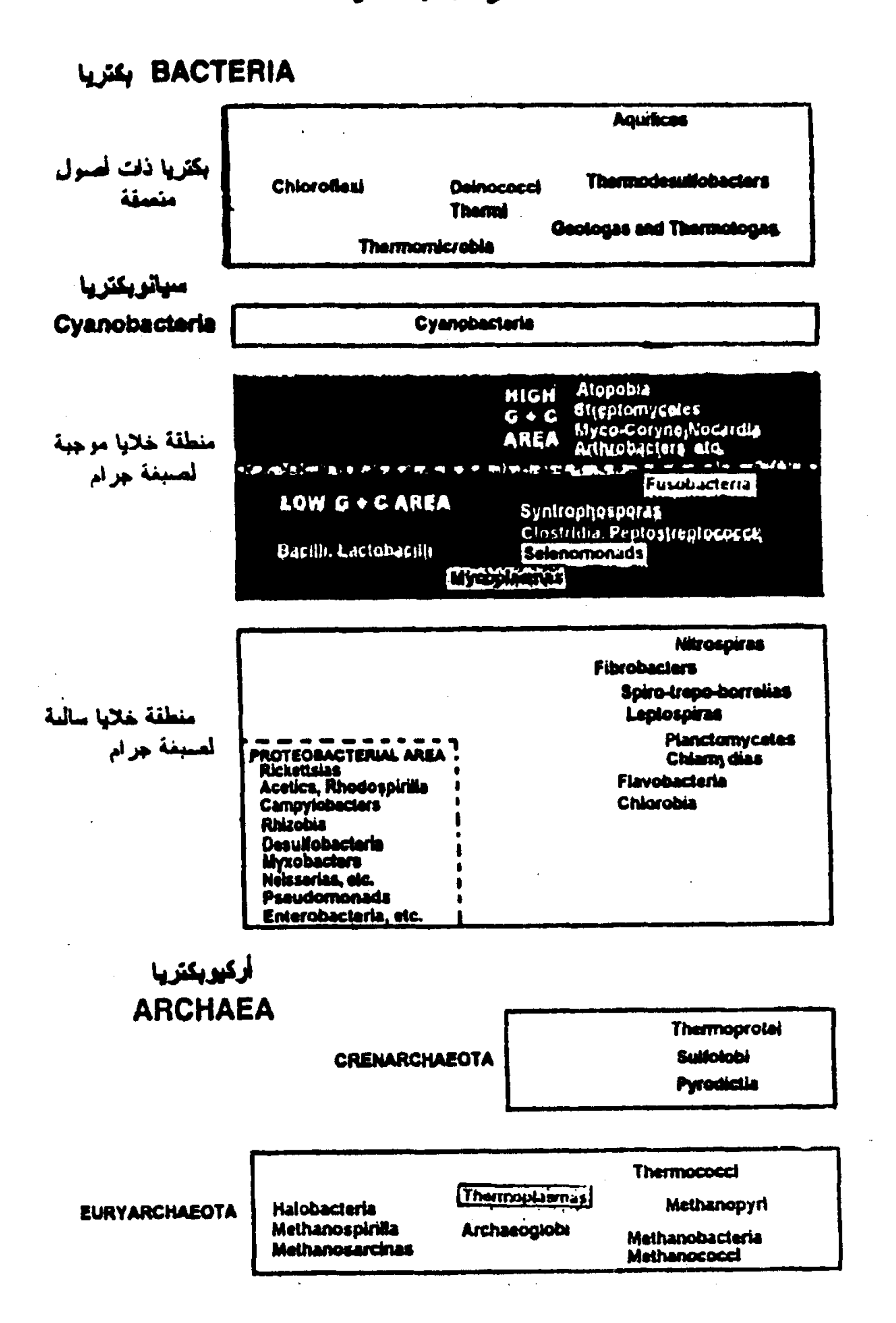
ويوضح شكل [٧ (١) - ١] وشكل [٧ (١) - ٢] ، المجموعات الرئيسية لبدائيات النواة .

* أنظر تصنيف المجموعات البكتيرية الهامة ، بالباب السابع ، بالفصل الثانى .



شكل (٧ (١)-١ : المجاميع الرئيسية للبروكاريوتا ، وقرابة بعضها لبعض ، ومنشؤها التطورى مع الزمن .
- يعبر الحجم النسبى للقرص البيضاوى عن عدد الأنواع البكتيرية بكل مجموعة .
- منشأ المجاميع البكتيرية وتطورها من الأشكال البدائية الأولى ، موضح بخطوط منقطة ، لأنه مازال موضع نقاش

From : Garrit G.M. (2001).



شكل ٧ (١) – ٢ : ترتيب مبسط يوضح الهيكل الأساسى لتقسيم المجموعات الرئيسية للبروكاريوتا .
- المستطيل الأسود يبين البكتريا الموجبة لصبغة جرام .
- المستطيلات المظللة تبين مجاميع البكتريا والأركيو التى بدون جدار خلوى .

From : Garrit G.M. (2001).

نظم تقسيمية أخرى

بالإضافة إلى نظم التقسيم الموجودة فى مرجع برجى ، فإنه يوجد نظما أخرى لتقسيم البكتريا ووضعها فى فئات تصنيفية Taxa ، منها نظام التصنيف العددى Numerical taxonomy ، ونظام التصنيف الوراثى المبنى على صلات القرابة الوراثية Genetic relatedness .

التصنيف العددى : Numerical Taxonomy ; Adansonian Taxonomy

التصنيف العددى هو إحدى الطرق المستخدمة فى تصنيف البكتريا ، وهو تصنيف مقترح بواسطة العالم Adanson, Michel المعاصر للينيوس Linnaeus . ويعتمد التصنيف العددى على الصفات المحسوسة للكائن ، مرئية كانت أو ممكن اثبات وجودها Visible or demonstrable properties ، والتى أساسها خصائص الشكل الظاهرى Phenotypic properties ، وتظهر هذه الخصائص على الكائن ، نتيجة استجابة تركيبه الوراثى للظروف البيئية المحيطة به .

وتتوقف دقة التصنيف العددى على توفر البيانات الخاصة بأكبر عدد ممكن من الصفات التشخيصية للكائن ، والتى يمكن أن تقدر بما يتراوح مابين ١٠٠ الى ٢٠٠ صفة ، وذلك من منطلق أن لكل صفة من الصفات المستخدمة فى التصنيف العددى ، لها وزنها وتأثيرها المتساوى مع غيرها فى عملية التصنيف . ويشار لكل صفة بعلامة + أو - ، حسب وجودها أو عدم وجودها .

وبتجميع البيانات الخاصة بصفات السلالات المختلفة ، وباستخدام الحاسبات الآلية ، يمكن عمل الارتباطات المتبادلة بين تلك الصفات ، وذلك لمقارنة كل صفة تشخيصية من صفات السلالة المدروسة ، مع كل صفة تشخيصية بكل السلالات الأخرى .

ومن عدد المتشابهات Number of Similarities الموجبة والسالبة ، الموجودة بين الصفات المختلفة للسلالات ، يمكن تقدير درجة القرابة بين السلالات وبعضها Degree of relatedness ، فدرجة القرابة بين سلالة وأخرى هى المحصلة بين عدد الصفات المتشابهة التى بين السلالات ، منسوبة الى العدد الكلى للصفات المختبرة .

ويعبر عن التشابه بين أزواج من السلالات A, B ، بحساب قيمة معامل التشابه Similarity coefficient, S ، وهذا يساوى

$$S = \frac{N_{sp} + N_{sn}}{N_{sp} + N_{sn} + c + d}$$

حيث S : معامل التشابه

Number of similar positive characters : N_{sp}

أى مجموع عدد الصفات المشتركة ، المتشابهة الموجبة ، للسلالتين B , A

Number of similar negative characters : N_{sn}

أى مجموع عدد الصفات المشتركة ، المتشابهة السالبة ، للسلالتين B , A

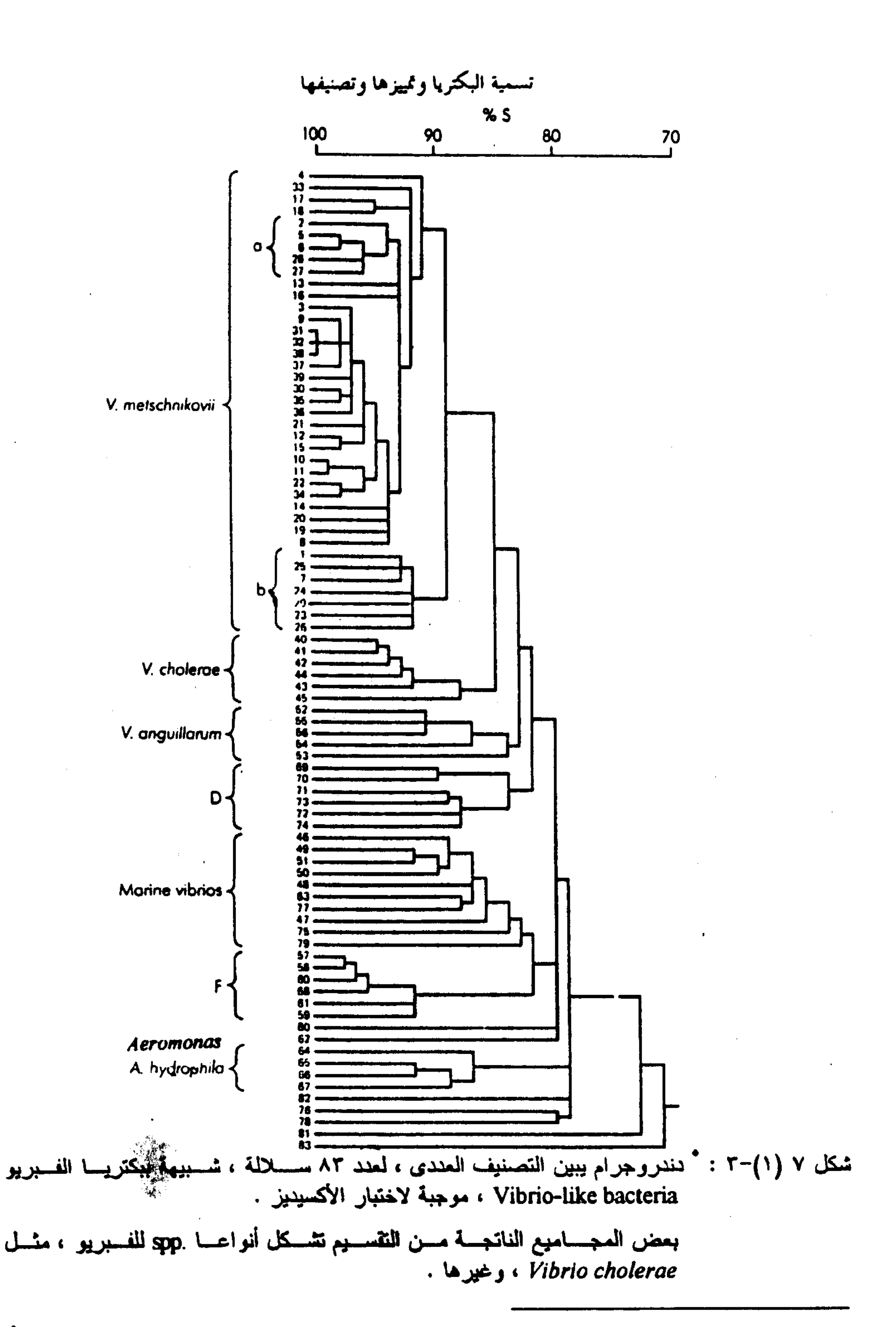
c = مجموع عدد الصفات المشتركة ، المتشابهة الموجبة بالنسبة للسلالة A والسالبة بالنسبة للسلالة B

d = مجموع عدد الصفات المشتركة ، المتشابهة السالبة بالنسبة للسلالة A ، والموجبة بالنسبة للسلالة B

قيمة S الناتجة تتراوح بين صفر الى ١ ، وقيمة ١ ، تعنى أن التشابه بين السلالتين موجود بنسبة ١٠٠% ، وقيمة أقل من ٠,٠٢ تعنى عدم وجود أى تشابه بين السلالتين .

قيم معامل التشابه S ، أو النسبة المئوية للتشابه S% المتحصل عليها ، يمكن أن يعبر عنها فى صورة مخطط شجيرى الشكل ، دندروجرام Dendrogram ، وذلك لتوضيح العلاقة ودرجة القرابة بين كل كائن وبين باقى الكائنات الأخرى التى تقع بنفس المجموعة ، وبذلك يمكن تحديد المجاميع التقسيمية للبكتريا على أساس التصنيف العددى [شكل ٧ (١) -٣] .

التصنيف العددى له أهميته التطبيقية ، كما أنه يُمكِّن الباحث من دراسة عدد كبير من صفات الكائن ، كما يُمكِّنه من التنبوء بموقع السلالة المختبرة تصنيفيا ، إلا أنه مجهد جدا فى إجرائه ، ومحدود فى استعماله ، ولايعتمد على خصائص وراثية ، لذلك فانه ليس هناك إتفاق كامل عليه ، لاستخدامه فى تصنيف البكتريا .



شكل ٧ (١)-٣ : * دندروجرام يبين التصنيف العددى ، لعدد ٨٣ سلالة ، شبيهة ببكتريا الفبريو Vibrio-like bacteria ، موجبة لاختبار الأكسيديز .

بعض المجاميع الناتجة من التقسيم تشكل أنواعا .spp للفبريو ، مثل *Vibrio cholerae* ، وغيرها .

***From :**

Lee, J.V.: T.J. Donovan and A.L. Furniss Int. J. Syst.. Bacteriol., 28: 99-111, 1978

التصنيف الوراثى

يعتمد التصنيف الوراثى على صلات القرابة الوراثية Genetic relatedness التى توجد بين أنواع البكتريا ، أى على صفات المادة الحاملة لصفات البكتريا الوراثية ، وهى حامض الدنا ، ويتم ذلك بدراسة الصفات الوراثية الهامة المشتركة بين الأنواع البكتيرية ، واستخدام ذلك للتمييز بين الأنواع البكتيرية ووضعها فى فئات تصنيفية .

ويعتبر التصنيف الوراثى للبكتريا ، أكثر نظم التصنيف موضوعية ، لاعتماده على صفات المادة الوراثية ، كما أنه يمكننا من معرفة كيف تطورت البكتريا ، ومدى الارتباط القائم بين الأنواع البكتيرية المختلفة ، وإمكان تصميم مايعرف بشجرة السلالة (شجرة النسب) Phylogenetic tree التى تربط الأسلاف بالأحفاد ، بالنسبة لمجموعة تصنيفية معينة .

وقد أصبح واضحا الآن بعد ماتم من دراسات وراثية ، أن البكتريا (البروكاريوتا) التى نعرفها حاليا قد تطورت منذ البداية من خلال طريقين أساسيين على الأقل ، وأصبحت تكون مجموعتين متباعدتين من حيث القرابة الوراثية ، وصفات كل مجموعة منهما .

* **المجموعة الأولى** هى مجموعة الأركيو بكتريا **Archeobacteria** التى تضم مجموعات محدودة ذات صفات خاصة ، وهى تشمل البكتريا المنتجة لغاز الميثان Methanogens ، والبكتريا المحبة للملوحة إجبارا Extreme halophiles ، والبكتريا المحبة للحموضة والحرارة المرتفعة معا Thermoacidophiles .
* **والمجموعة الثانية** هى مجموعة البكتريا الحقيقية الإيوبكتريا **Eubacteria** ، وهى البكتريا الواسعة الانتشار ، والمعتادة بالنسبة لنا فى الوسط المحيط بنا .

والأساس فى التصنيف الوراثى ، هو مقارنة القواعد النتروجينية بحامض الدنا الموجودة فى بكتيرة ما ، بتلك القواعد الموجودة فى بكتيرة أخرى ، وتقدير النسبة المئوية للجوانين + السيتوسين بالحامض النووى Mole % G + C content of DNA .

فالأنواع البكتيرية المتشابهة أو القريبة من بعضها ، يحتوى حامضها النووى على نسب متقاربة من تلك القواعد النتروجينية ، بينما الأنواع البكتيرية التى يزيد الفرق بين نسبة قواعدها النتروجينية عن ١٠% ، فإنها لاتعتبر متشابهة وراثيا .

وجدول [٧ (١) - ٤] يوضح نسب القواعد النتروجينية فى بعض أنواع البكتريا .



جدول ٧ (١)-٤ : أمثلة لنسب القواعد النتروجينية لبعض أنواع البكتريا*

النوع البكتيرى	مول % جوانين + سيتوزين في حامض الدنا
Azospirillum brasilense	٧٠ – ٧١
A. lipoferum	٦٩ – ٧٠
Campylobacter fetus	٣٢ – ٣٥
C. jejuni	٣١
Klebsiella pneumoniae	٥٦ – ٥٨
K. terrigena	٥٧
Neisseria gonorrhoeae	٥٠ – ٥٣
N. elongata	٥٣ – ٥٤
Pseudomonas aeruginosa	٦٧
P. cichorii	٥٩

*Ref.

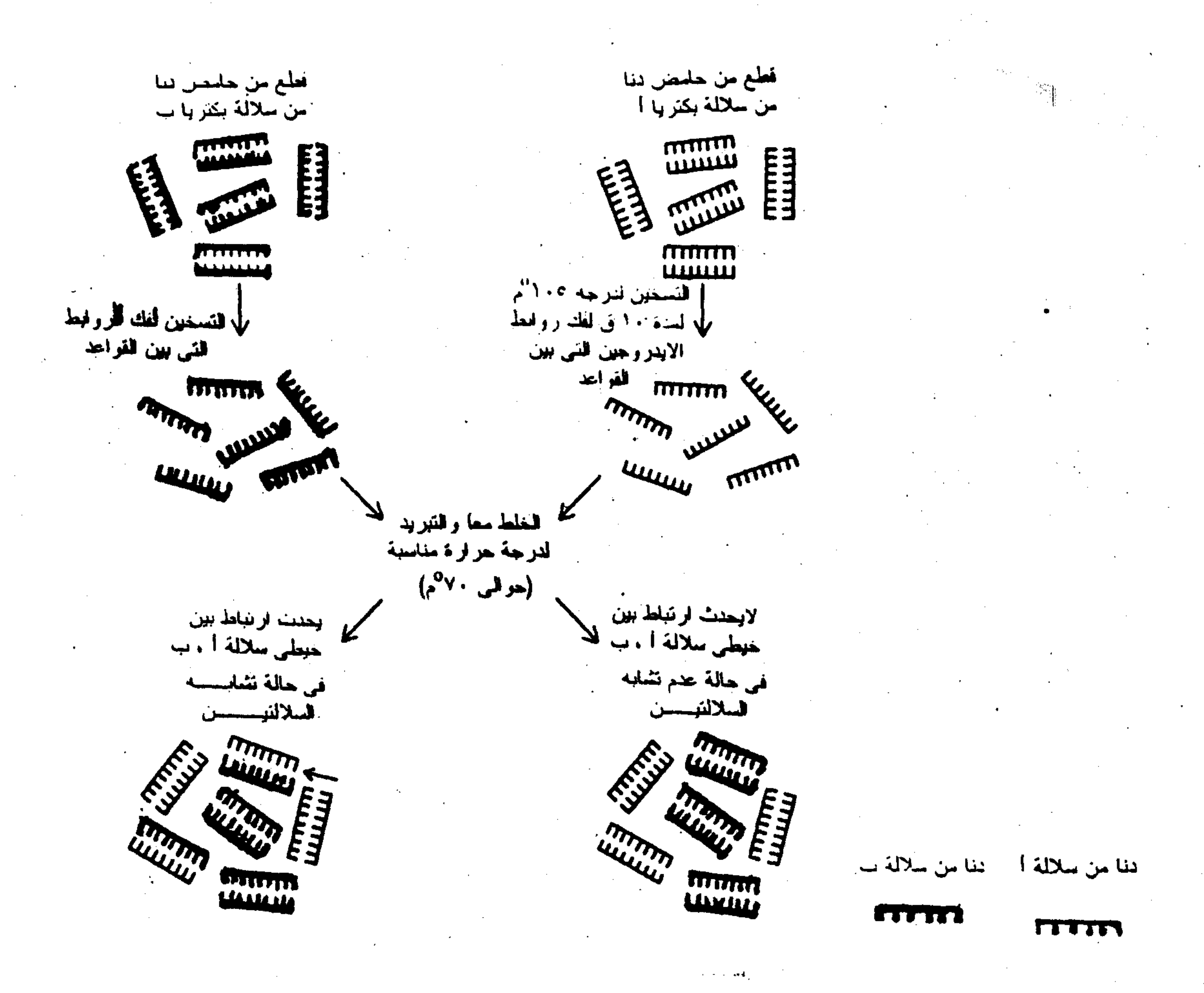
Krieg N.R. (ed.) 1984
Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 1, Williams & Wilkins, Baltimore, USA

ونظرا لوجود أنواع بكتيرية مختلفة عن بعضها ، ولكنها تحتوى على نسب متشـــابهة من القواعد النتروجينية بحامض الدنا ، فإن دراسات التصنيف الوراثى تستكمل بدراســة تتــابع قواعد النيوكليوتيدات الموجودة بحامض الدنا ، حيث أن هذا التتابع صفة ثابتة للنوع ، ولايتـــأثر بعمر الخلية أو بالمؤثرات الخارجية ، عدا المواد المطفرة .

تقنية التشابه والتهجين بين الدنا

من التقنيات المستخدمة الآن لمقارنة الأنواع البكتيرية ببعضـــها ، ومعرفــة صــلات القرابة الوراثية التى بينها ، ومدى التشابه الموجود فى تتابع النيوكليوتيدات بين كروموســومين لكائنين مختلفين انحـدرا مــن ســلف مشــترك ، هــو تقنيــة التشــابه بيــن دنــا الأنــواع DNA homology ، وتقنية التهجين بين الدنا DNA-DNA hybridization ، وكذلـــك تقنيــة التشابه فى الرنا الرايبوسومى من نوع 16S ، Ribosomal, 16S rRNA homology بيــن الأنواع ، وتقنية التــهجين بيــن الرنــا الرايبوســومى والدنــا rRNA-DNA hybridization (أنظر ص ٣٦٤ و ٣٦٦) .

والشكل (٧ (١)-٤) التخطيطى التالى يوضح الأساس فى تجارب تقنية التشـــــابه فـــى الدنـــا .



---

* تميز قطع دنا السلالة أ عن قطع دنا السلالة ب ، بادخال قاعدة نتروجينية مثل اليوراسيل ذات نظـــير مشـــع ^{14}C بحامض دنا السلالة أ .

** تقدير درجة التشابه بين الأنواع ، يتم بتقدير النسبة المئوية الناتجة من ارتباط الدنا المشع من السلالة أ ، مـــع الدنـــا العادى بالسلالة ب .

تقنية التشابه فى الرنا الرايبوسومى : r-RNA homology

يشفر لتخليق حامض الرنا الرايبوسومى r-RNA ، جزء جينى من دنا DNA الخليـــة البكتيرية ، يحمل المعلومات الخاصة بتكوين الرنا الرايبوسومى ، يسمى RNA cistron ، ومـــن دراسة تتابع قواعد النيوكليوتيدات فى هذا الجين ، وبمقارنتها بتلك الموجودة فى نـــوع بكتـــيرى اخر ، يمكن معرفة درجة التشابه وصلة القرابة الوراثية بينهما .

علم تطور السلالات البكتيرية : * Bacterial phylogeny

بتقدم الدراسات الخاصة بعلم الميكروبيولوجيا الجزيئية منذ الستينات من القرن الماضى، ومع تقدم نظم التصنيف الوراثى للبكتريا ، وُضع الأساس لعلم تطور السلالات البكتيرية ، وهـــو العلم الذى يدرس نشوء وتطور السلالات والأنواع والمجاميع البكتيرية ، وأزمنة حـــدوث تلـــك التطورات ، ومدى الارتباط الموجود بين الانواع البكتيرية المختلفة . وقد أمكن بذلـــك تصميـــم مخطط ، يعرف بشجرة السلالة البكتيرية Phylogenetic tree ، وهو المخطط الذى يبين روابط النسب بين الأنواع البكتيرية ، والتسلسل التاريخى الذى يربط الأسلاف بالأحفاد .

وتقدم دراسة تتابع قواعد النيوكليوتيدات الموجودة فى حـــامض الرنـــا الرايبوســـومى rRNA ، الأساس المناسب لدراسة تطور السلالات . فالرايبوسومات توجد بكل خلية لأنها مكان تخليق البروتينات بالخلية ، كما أن تتابع قواعد الرنا الرايبوسومى ، هى صفة ثابتة بالنسبة للنوع البكتيرى ، ولايتأثر هذا التتابع بالمؤثرات المختلفة التى تتعرض لها الخليـــة ، والأســـاس فـــى المقارنة بين الخلايا البكتيرية المختلفة هـــو 16S rRNA الموجـــود برايبوســـوم 30S ، ومـــن الطبيعى فان خلايا البروكاريوتا تختلف فى تتابع قواعدها عن ذلك التتابع الموجـــود بالأحيـــاء حقيقية النواة ، الايوكاريوتا .

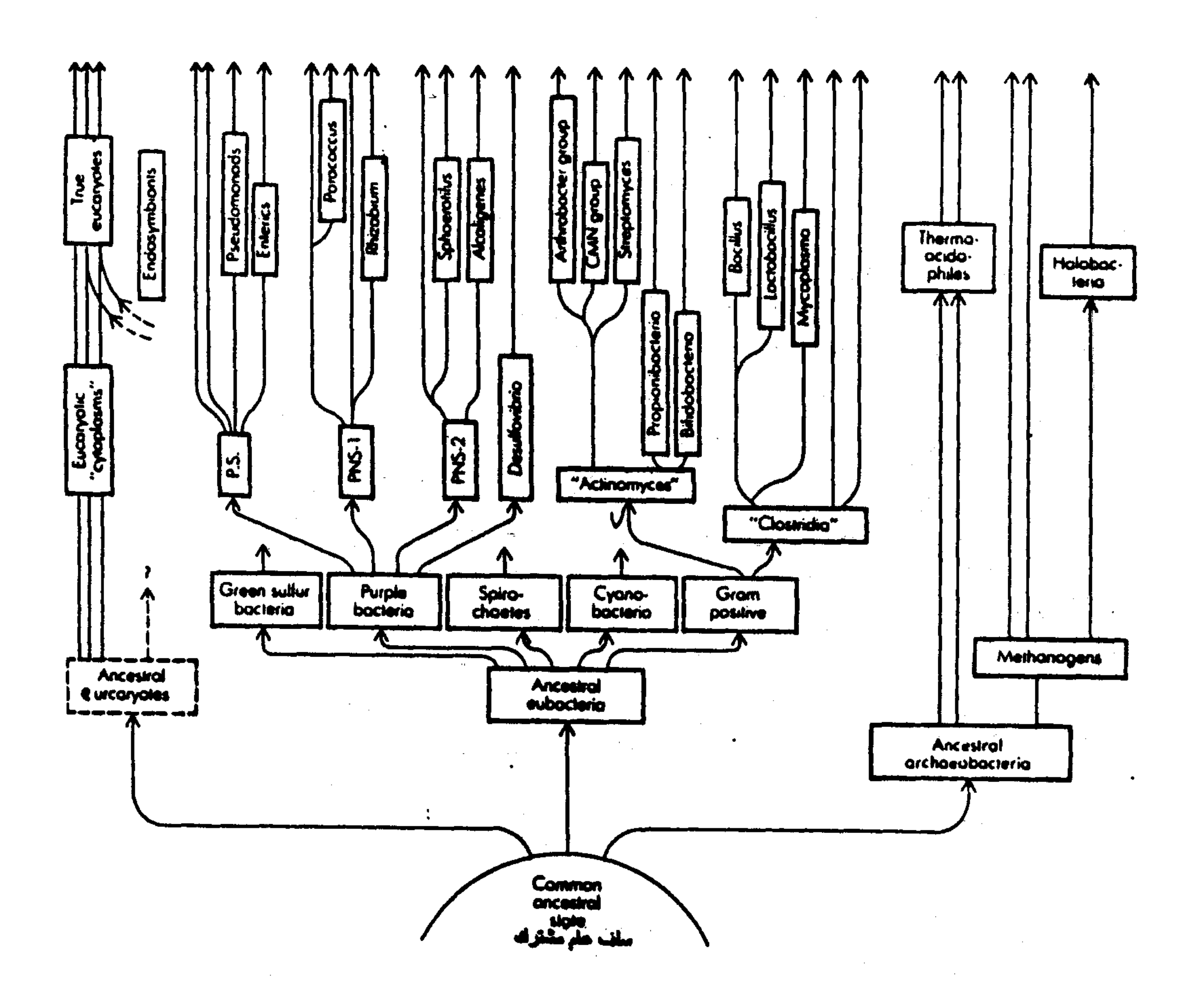
وكما ذكر سابقا ، فإن الدراسات الوراثية ، وما أنجز مـــن دراســـة تتـــابع القواعـــد النتروجينية فى حامض 16S rRNA ، أوضحت أن البروكاريوتا ، تشعبت منذ بداية التطـــور الى مجموعتين أساسيتين ، هما الأركيوباكتريا والإيوبكتريا . وقد أمكن بعمل دراسات مقارنـــة بين الخلايا المختلفة ، التعرف على علاقات النسب الموجودة بين الأركيوباكتريا ، والإيوباكتريا، والإيوكاريوتا [شكل ٧ (١)-٥] .

---

* Phylogeny : علم تطور السلالات ، علم تسلسل الأحياء ، علم التطور السلفى

العلم الذى يدرس نشوء وتطور ، نوع ما ، أو سلالة ما ، أو مجموعة ما من الكائنات ، منذ نشأتها الأولى حتى وصولها إلى شكلها المعاصر .

وكذلك يدرس العلم العلاقات التى تربط بين تلك الأنواع التى تطورت ، وتواريخ تلك التطورات



شكل ٧ (١)-٥ : رسم تخطيطي يوضح المجاميع الرئيسية للبكتريا المنحدرة من سلف عام مشترك ، مستمدة من دراسة تتابع القواعد في rRNA .

ويلاحظ التفرع المبكر للأركيوباكتريا عن باقي المجاميع ، ووجود تفرع ثالث من المركز يؤدي الى الكائنات حقيقية النواة .

From : Fox, G.E. 1980. Science, 209: 457-463.

التصنيف المصلى : Serotyping

فى بعض الحالات ، تستخدم الخواص المناعية والتفاعلات السيرولوجية للتمييز بين سلالات النوع البكتيرى الواحد ، وذلك حسب الإختلافات الأنتجينية التى توجد بين تلك السلالات .

على سبيل المثال ، فإن البكتريا المسببة للالتهاب الرئوى الفصى والشعبى *Streptococcus pneumoniae* تضم أكثر من ٧٥ سلالة ، (يطلق عليها Type I, Type II ... etc.) ، وتختلف السلالات فيما بينها فى نوع السكريات المعقدة الداخلة فى تركيب الكابسول ، وتستخدم الأجسام المضادة الموجودة بسيروم الدم للتمييز بين تلك السلالات ، ولذلك تسمى هذه السلالات المختلفة عن بعضها فى خواصها الأنتجينية ، بطرز مصلية Serotypes .

وكذلك فإن البكتريا السبحية المحللة لكرات الدم الحمراء ، تقسم الى طرز مصلية حسب التركيب الكيميائى لأنتجيناتها الكربوهيدراتية .

التصنيف بواسطة البكتريوفاج : Bacteriophage typing

طريقة تستخدم فيها الفاجات لتصنيف سلالات البكتريا الهامة صناعيا أو مرضيا ، التابعة لنوع بكتيرى واحد ، مثل السلالات التابعة لبكتريا السالمونيلا ، والسلالات التابعة للبكتريا العنقودية .

وتعتمد هذه الطريقة على خواص جدار سلالة الخلية البكتيرية ، وبالتالى على مدى مقاومتها أو قابليتها للتحلل بواسطة الفاجات المستخدمة ، وتفيد هذه الطريقة فى تشخيص السلالة البكتيرية المسببة للمرض .

﴿الباب السابع – الفصل الثانى﴾

المجموعات البكتيرية الهامة

المحتويـــات

الموضوع **الصفحة**

المجموعات البكتيرية الهامة (الواردة بهذا الفصل)

المحتويات

الموضوع	الصفحة

المحتويات

المحتويات

الموضوع	الصفحة

المحتويات

«الباب السابع - الفصل الثانى»

المجموعات البكتيرية الهامة
Important Bacterial Groups

فيما يلى حصر موجز لأهم المجموعات والأجناس البكتيرية ، مقسمة حسب أشكالها (كروى ، عصوى ، حلزونى) ، وتأثرها بالصبغ بصبغة جرام (موجب أو سالب) ، وعلاقتها بأكسجين الهواء الجوى (هوائية ، إختيارية ، لاهوائية) ، والتجرثم وبعض الخواص الأخرى ، مع تعريف مبسط ومختصر بأهم مميزات كل مجموعة ، وذلك حسب الأسس التى جاءت فى نظام برجى فى طبعاته من ١٩٨٤ إلى ١٩٨٩* والطبعة التاسعة الصادرة عام ١٩٩٤** ، بهدف تعريف القارىء بأهم الأجناس والأنواع الموجودة فى عالم البكتريا .

A- البكتريا الكروية الموجبة لصبغة جرام : Gram positive , Cocci

[جدول ٧ (٢) ١]

يتبع هذه المجموعة أجناس بكتيرية موجبة لصبغة جرام ، هوائية حتماً مثل *Micrococcus* ، أو محبة للأكسجين بكمية قليلة مثل *Streptococcus* ، كما يتبعها أجناس لاهوائية مثل ***Ruminococcus*** .

جدول ٧ (٢)-١ : أجناس البكتريا الكروية الموجبة لصبغة جرام
(Group 17, Bergey's 1994)

لاهوائية (A4)	اختيارية للهواء (A3)	محبة لكمية قليلة من الأكسجين (A2)	هوائية (A1)
Coprococcus *Peptococcus* *Peptostreptoccus* *Ruminococcus* *Sarcina*	*Deinococcus* *Staphylococcus*	*Lactococcus* *Leuconostoc* *Pediococcus* *Streptococcus*	*Micrococcus* *Planococcus*

* **Krieg, N.R. and J.G. Holt (1984-89). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 1,2,3 & 4, Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, USA.**

** **Williams R.H. (ed.) 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th Ed., Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, USA, ISBN 0-683-00603-7.**

وهى المراجع المتوفرة لدينا كاملة حتى الآن ، لأن آخر نظام لتقسيم برجى لعام ٢٠٠١ ، لم يصدر منه حتى كتابة هذه السطور ، سوى مجلداً واحداً فقط من خمسة مجلدات (أنظر ص ٣٧١) .

A1- الأجناس الكروية الهوائية

١ - *Micrococcus*

أنواع هذا الجنس كروية مفردة أو فى تجمعات ، غير متحركة ، ومنها أنواع تكــون مستعمراتا ملونة ، صفراء وبرتقالية وحمراء اللون ، باطباق البيئة الصلبة الهوائيــة . وأنواع الجنس مترممة ، وتوجد بالتربة والمياه وعلى جلد الانسان والحيــوان ، كمــا يتميز الجنس بمحتواه العالى من القواعد النتروجينية الجوانين والسيتوزين (مــن ٦٦ - ٧٢%) .

وفيما سبق كانت بعض أنواع الجنس مثل *M. luteus* ، كــانت تنسـب الــى جنــس *Sarcina* ، لتجمع خلاياها فى مجموعات [أنظر جدولى ٧ (١) ١ و ٢] .

من الانواع التابعة *M. luteus*

٢- Planococcus

أنواع جنس *Planococcus* هوائية ، متحركة بواسطة من ١ الى ٣ أسواط ، وتكــون البلانوكوكاس مستعمراتا صفراء بنية اللون ، وهى مترممة وتوجد بالأوساط المائية .

A2 - الأجناس الكروية المحبة للاكسجين بكمية قليلة (بكتريا حامض اللاكتيك الكروية)

يتبع البكتريا الكروية أجناس بكتريا حامض اللاكتيك الكروية [شــكلى ٧ (٢) ١ و ٢]، وهى أجناس *Streptococcus, Pediococcus, Leuconostoc* ، *Lactococcus* .

وتوجد هذه البكتريا فى سلاسل قصيرة أو طويلة ، وهى محبــة لكميــة قليلــة مــن الأكسجين ، سالبة لإختبار الكاتاليز * ولايحتوى معظمها على السيتوكرومات ، وتعتمد على التخمرات فى الحصول على طاقتها ، وهى تخمر السكريات الى حامض لاكتيك ، ومنها ، ماهو متماثل التخمر ** Homofermentative مثل الاستربتوكوكاس ، ومنــها ماهو خليط التخمر ** Heterofermentative ، مثل اللوكونوستوك .

١- *Leuconostoc*

أنواع هذا الجنس خليطة التخمر ، مترممة ، وتستعمل كبادىء فى الصناعات اللبنيــة لتكون من حامض الستريك ، مادة 2,3 butane dione (الداى اســيتايل Diacetyl) ، التى تكسب المنتج الطعم المرغوب فيه .

من الأنواع التابعة *L. mesenteroides, L. dextranicum, L. cremoris* .

---

* الكتاليز انزيم يحول H_2O_2 الى ماء وأكسجين .

** متماثل التخمر Homofermentative : يكون حامض اللاكتيك أكثر من ٩٠% من نواتج التخمر للسكريات .

خليط التخمر Heterofermentative: يتكون من نواتج تخمر السكريات ، حامض لاكتيك مع مواد أخرى مثل الايثانول .

٢- *Pediococcus*

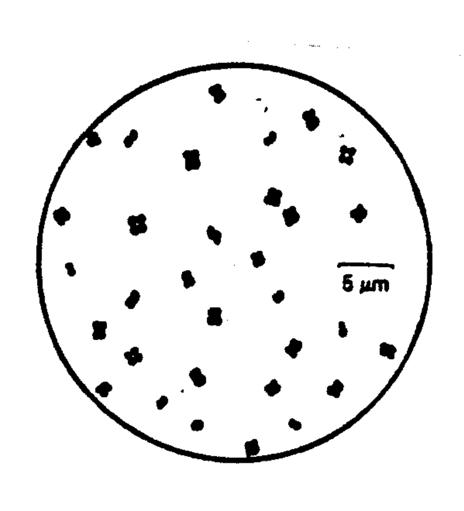
أنواع هذا الجنس مترممة ، وتسبب لزوجة بالوسط لما تفرزه من مواد عديدة التسكر . من الانواع التابعة *P. cerevisiae* [شكل ٧ (٢) - ٢] .

٣- *Streptococcus* [شكل ٧ (٢) - ١]

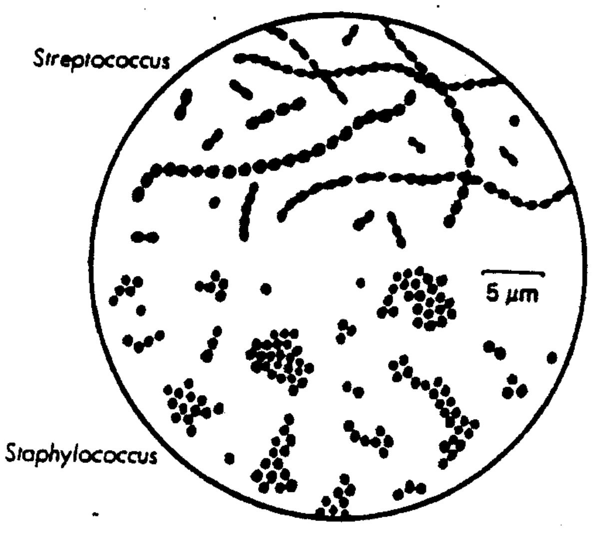
أنواع هذا الجنس ذات إحتياجات غذائية معقدة ، ويوجد عدة نظم لتقسيم أنواع هذا الجنس .

فبعض أنواع هذا الجنس تقسم إلى مجموعات ، تعرف بمجموعات لانسفيلد Lancefield groups ، وذلك حسب الاختلافات الموجودة بالمركبات عديدة السكريات الداخلة فى تكوين جدر خلايا الإستربتوكوكس .

كما أن بعض أنواع هذا الجنس تقسم حسب تأثيرها على كرات الدم الحمراء ، إلى أنواع محللة لكرات الدم الحمراء من نوع ألفا وبيتا (α & β-hemolytic)* ، وأخرى غير محللة لكرات الدم الحمراء ، Non-hemolytic .



شكل ٧ (٢)-٢ : رسم لخلايا
Pediococcus cerevisiae



شكل ٧ (٢) -١ : رسم لخلايا
Staphylococcus and *Streptocococus*

* α-hemolytic streptococci ، بكتريا سبحية محللة جزئياً لكرات الدم الحمراء ، حيث تكون هالة معتمة عديمة اللون أو خضراء اللون ، حول المستعمرات النامية فى بيئة آجار الدم ، مثل *S. viridans* .

β-hemolytic streptococci بكتريا سبحية محللة تماماً لكرات الدم الحمراء ، حيث تكون هالة رائقة عديمة اللون تماماً ، حول المستعمرات النامية فى بيئة آجار الدم ، مثل *S. pyogenes* .

Non-hemolytic streptococci ، بكتريا سبحية غير محللة لكرات الدم الحمراء ، حيث تكون مستعمراتاً فى بيئة آجار الدم ، غير محاطه بأية هالة ، مثل *S. faecalis* .

يتبع جنس استربتوكوكاس أنواع عديدة هامة ، منها

أ - *S. lactis & S. cremoris*

تتبع هذه البكتريا مجموعة Lancefield group N ، وهى أنواع هامة فى الألبـــان وفى صناعة المنتجات اللبنية كالألبان المتخمرة والجبن .

وقد أصبحت هذه الأنواع الآن تنسب الى جنس *Lactococcus* [أنظـــر جدولـــى ٧ (١)- ١ و ٢]

ب - *S. faecalis (Enterococcus faecalis)*

تتبع هذه البكتريا مجموعة Lancefield group D ، وتوجد هذه البكتريـــا طبيعيـــا بأمعاء الانسان والحيوان ، لذلك تسمى أحيانا بالكرويات المعوية Enterococci .

ووجود هذه البكتريا بمياه الشرب ، يعنى تلوث المياه بمخلفات المجارى . ومن هـــذه البكتريا سلالات إنتهازية (نهازة للفرص) Opportunistic وتسبب عدوى للجـــهاز البولى .

جـ - *S. mutans*

غير محللة لكرات الدم ، ولاتتبع مجموعة لانسفيلد ، وتقطن هذه البكتريا بتجويـــف الفم ، وهى المسبب الرئيسى لتسوس الأسنان .

د - *S. pyogenes*

تتبع هذه البكتريا Lancefield group A ، كما أنها من النوع β-hemolytic . وهذه البكتريا ممرضة وتسبب عددا من الأمراض ، منها التهابات الزور والحمى القرمزية والحمى الروماتزمية .

هـ - *S. pneumoniae*

وهى من النوع α-hemolytic ، وغير محدد لها مجموعة لانسفيلد ، وهذه البكتريـــا تعتبر المسبب الرئيسى لمعظـــم حـــالات الإلتـــهاب الرئـــوى الفصـــى بالانســـان Lobar pneumonia . وكانت هذه البكتريا تعـــرف ســـابقا باســـم *Diplococcus pneumoniae* ، وتسمى عرفيا بالكرويات الرئوية Pneumococci .

٤ - *Lactococcus & Streptococcus*

فى بعض نظم تقسيم بكتريا حامض اللاكتيك الكروية ، يوجد جنـــس *Lactococcus* . وينتمى إلى هذا الجنس بعض الانواع التى كانت تتبع جنس *Streptococcus* ، مثـــل استبدال اسم *S. lactis* بـ *Lactococcus lactis* subsp, *lactis* ، واســـتبدال اســـم *S. cremoris* بـ *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* .

A3 - الأجناس الكروية الموجبة لصبغة جرام الاختيارية للهواء

١ - *Deinococcus*

توجد أنواع هذا الجنس فى تجمعات ، ويكون مستعمراتا حمراء اللـــون علـــى البيئـــة الصلبة ، وهو مقاوم للإشعاع لذلك يفسد الأغذية المحفوظة بالتشعيع .

من الانواع التابعة *D. radiodurans* .

٢ - *Staphylococcus* [شكل ٧ (٢)-١]

استمد جنس Staphylococcus اسمه من نظام تجمع أفراده ، الذى يكون فـــى شـــكل عنقود * (Staphyle) ، ينتج من إنقسام الخلايا الكروية فى مستويات متعددة .

وأنواع جنس الاستافيلوكوكاس غير متحركة ، إختيارية للهواء ، تكـــون الســـيتوكروم بخلاياها تحت الظروف الهوائية فقط ، وهى موجبة لإختبار الكاتاليز ، ومقاومة نســـبياً للجفاف ، وتوجد على الجلد والأغشية المخاطية للإنسان وحيوانات ذوات الدم الحار .

النوع *S. aureus* يكون مستعمراتا ذهبية اللون ، وهو ممرض ، ويكون الصديـــد بالجروح والدمامل والخراريج ، كما يسبب مرض التهاب الضرع بالحيوانات ، ومنـــه سلالات مفرزة لســـموم معويـــة Enterotoxins بـــالغذاء خاصـــة غـــير المحفـــوظ بالمبردات ، تسبب تسمماتاً للإنسان .

من الأنواع التابعة للجنس :

S. albus, S. aureus, S. epidermidis, S. saprophyticus

---

* Staphyle : كلمة ذات أصل إغريقى تعنى عنقود العنب .

A4 - الأجناس الكروية الموجبة لصبغة جرام اللاهوائية

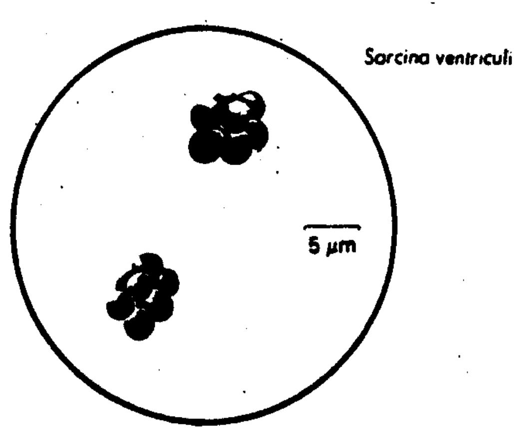
جدول [٧ (٢)-٢] يوضح بعض المميزات الخاصة بالأجناس البكتيرية الكروية الموجبة لصبغة جرام اللاهوائية .

جدول ٧ (٢)-٢ : مميزات بعض أجناس البكتريا الكروية ، الموجبة لصبغة جرام ، اللاهوائية.

الجنس والانواع	نظام تجمع الخلايا	المصدر الرئيسي للكربون والنتروجين	التواجد
Coprococcus	أزواج أو سلاسل	الكربوهيدرات	براز الانسان
Peptococcus	أزواج أو سلاسل أو تجمعات	بيتون أو أحماض أمينية	- الجهاز التنفسي والمعوى للانسان - طين الخلجان
Peptostreptocooccus	أزواج أو سلاسل	بيتون أو أحماض أمينية	العينات الإكلينيكية للانسان
Ruminococcus *R. albus,* *R. flavefaciens*	أزواج أو سلاسل	الكربوهيدرات	كرش المجترات
Sarcina *S. flava, S. lutea,* *S. ventriculi*	مكعبات من ثمانية خلايا	الكربوهيدرات	الأراضى ، الحبوب ، أمعاء المرضى

Sarcina ventriculi [شكل ٧ (٢)-٣] بكتريا لاهوائية ، ويمكن عزلها من الأراضى، ولكنها توجد عادة فى المحتويات المعوية للمرضى بأمراض المعدة .

وتمتاز هذه البكتريا بكبر حجم خليتها (قطر الخلية حوالى ٤ ميكرومتر) ، وبتجمع خلاياها فى تجمعات كبيرة (تحتوى المجموعة على حوالى ٦٥ خلية مرتبطة مع بعضها بالسليلوز) ، وبقدرتها على النمو في مجال متسع من ق يد يتراوح بين ٠,٩ الى ٩,٨ ، وبتكوينها لجراثيم داخلية .



شكل ٧ (٢)-٣ : رسم لخلايا *Sarcina ventriculi* .

B - البكتريا الكروية السالبة لصبغة جرام : Gram negative Cocci

[جدول ٧ (٢) - ٣]

تضم هذه المجموعة بكتريا كروية Cocci وبكتريا كروية عصوية قصيرة جداً (Cocco-bacilli) .

وأفراد هذه المجموعة سالبة لصبغة جرام ، غير متحركة ، منها الهوائى واللاهوائى ، والمترمم والممرض ، ومايعيش بالجهاز المعوى ، وبالأغشية المخاطية لكثير من الحيوانات .

جدول ٧ (٢)-٣ : أجناس البكتريا الكروية السالبة لصبغة جرام (Groups 4 & 8 Bergey's, 1994) .

لاهوائية (B2)	هوائية (B1)
Acidaminococcus	*Acinetobacter*•
Megasphaera	*Branhamella*
Veillonella	*Lampropedia*
	Moraxella•
	Neisseria
	Paracoccus•

•كروى عصوى

B1 - الأجناس الكروية الهوائية Aerobic cocci

١- *Neisseria*

كرويات فى أزواج ، موجبة لإختبار الأكسيديز •• ، وهى متطفلة ، وتعيش فى الأغشية المخاطية للإنسان والحيوان .

من أنواع جنس نسيريا الهامة

أ - *N. gonorrhoeae*

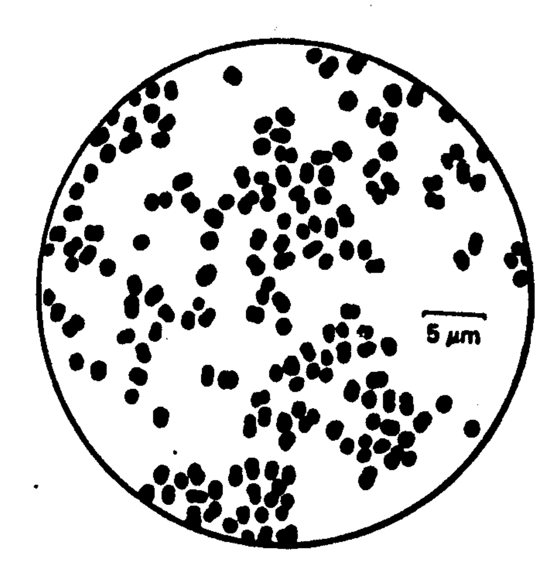
مسبب لمرض جنسى بالانسان ، وهو مرض السيلان . وقد تم إستئصال المرض فى دول عديدة لحساسية الميكروب العالية لمضاد البنسلين .

من الصعب زراعة بكتريا السيلان فى المعمل ، فهى تحتاج لظروف هوائية مع ١٠% CO_2 ، كما أنها شديدة الحساسية للضوء والجفاف .

ب - *N. meningitidis* [شكل ٧ (٢)-٤]

تقطن مجرى الأنف والبلعوم ، كما تنتشر بالجهاز الوعائى ، وهى المسبب للإلتهاب السحائى .

•• اختبار الأكسيديز : اختبار يجرى للكشف عن وجود سيتوكروم سى Cytochrome C بالبكتريا ، وفى التفاعل الموجب، فإن مستعمرات البكتريا النامية على البيئة الصلبة تتلون باللون الأحمر ، عند معاملتها بدليل Tetra methyl-*p*-phenylene diamine .



شـــكل ٧ (٢)-٤ : رســـم لبكتريـــا
Neisseria gonorrhoeae
الخلايا كروية متجمعة فى أزواج .

Acinetobacter -٢

كرويات عصوية فى أزواج ، سالبة لإختبار الأكسيديز ، مترممة تعيش بالاراضى والمياه والمجارى ، متعددة المصادر الغذائية ، ويمكن عزلها بسهولة فى بيئات محتوية على ٠,٢% ، خلات ، عند ق يد من ٥,٥ الى ٦ .

ومن أفراد هذا الجنس ، أنواع مرضية إنتهازية Opportunistic organisms تساعد فى العدوى عند ضعف مقاومة العائل ، خاصة فى المستشفيات .

ويستخدم *A. calcoaceticus* فى الدراسات الخاصة بالانتقالات الوراثية .

Branhamella-٣

كرويات فى أزواج ، موجبة لاختبار الأكسيديز ، متطفلة وتوجد بالأغشية المخاطية .

Lumpropedia -٤

كرويات مترممة ، توجد فى الأوساط المائية .

وتمتاز هذه البكتريا بأن أفرادها تكون تجمعات فى شكل صفائح مربعة

ومن الأنواع التابعة *L. hyalina* .

Moraxella -٥

كرويات عصوية ، موجبة لإختبار الأكسيديز ، حساسة للبنسلين ، وغير قادرة على تمثيل الكربوهيدرات .

ومن الانواع التابعة *M. lacunata, M. olsoensis* .

Paracoccus -٦

كرويات عصوية قصيرة ، مفردة ، غنية بالمواد المخزنة مثل الفوسفور وبيتا هيدروكسى بيوتيرات .

من الأنواع الهامة *P. denitrificans* وهو هوائى إلا أنه يمكن أن ينمو تحت الظروف اللاهوائية لو توفرت النترات بالبيئة ، حيث يختزل NO_3 الى N_2 (عملية دنترة) .

وهذه البكتريا هامة فى كثير من الدراسات الفسيولوجية والبيوكيميائية ، لقدرتها على النمو تحت ظروف مزرعية متعددة ، ولأن نظامها الناقل للإلكترونات ، يشبه ذلك الموجود بالأغشية الداخلية للميتوكوندريا ، بالخلايا حقيقية النواة .

B2 - الأجناس الكروية اللاهوائية : Anaerobic cocci

كرويات فى أزواج ، تختلف الأجناس عن بعضها فى الحجم [شكل ٧ (٢)-٥] ، وفى مصادر طاقتها ونواتج تخمراتها .

من أجناس هذه المجموعة

١- *Acidaminococcus & Megasphaera*

تقطن أمعاء الحيوانات ، وهى محفزة لتحليل الأحماض الأمينية ، مع انتاج حامض أستيك وبيوتريك و CO_2 ، وذلك فى حالة بكتريا *Acidaminococcus* .

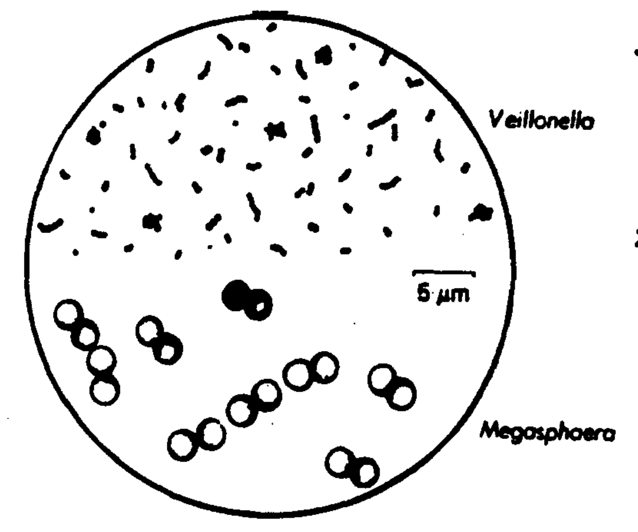
وانتاج أحماض الأستيك والبروبيونيك والبيوتريك والفالريك والكابرويك اضافة الى غاز CO_2 ، وذلك فى حالة بكتريا *Megasphaera* .

ومن أنواع المجاسفيرا ، *M. elsdenii* .

٢- *Veillonella* : [شكل ٧ (٢)-٥]

توجد فى لعاب الانسان والحيوان وفى كرش المجترات ، وهى تخمر الأحماض العضوية خاصة اللاكتيك الى خليك وبروبيونيك و H_2, CO_2

ومن الأنواع التابعة *V. alcalescens* .



شكل ٧ (٢)-٥ : رسم لبكتريا كروية لاهوائية تتبع جنسى *Veillonella & Megasphaera* .

C - البكتريا العصوية الموجبة لصبغة جرام المتجرثمة داخليا

Endospore-forming, Gram positive, Rods [جدول ٧ (٢) – ٤]

بعض الأجناس البكتيرية قادرة على تكوين جراثيم داخلية Endospores . وتمتاز هذه الجراثيم بقدرتها على مقاومة الظروف السيئة عن الخلايا الخضرية التى نشأت منها ، مثل مقاومة الحرارة المرتفعة والجفاف والحموضة ... الخ .

وهذه الأجناس المتجرثمة داخليا الموجبة لصبغة جرام ، وهى (باستثناء أنواع محدودة) ، عصوية متحركة بأسواط محيطية ، ومنها الهوائى كما فى جنس *Bacillus* ، والمحب لكمية قليلة من الأكسجين كما فى جنس *Sporolactobacillus* ، واللاهوائى كما فى جنس *Clostridium* ، وتتميز الأنواع المتجرثمة بقدراتها البيوكيميائية .

جدول ٧ (٢)-٤ : أجناس البكتريا العصوية الموجبة لصبغة جرام المتجرثمة داخليا * . (Group 18, Bergey's 1994)

هوائية (C1)	محبة لكمية قليلة من الأكسجين	لاهوائية (C2)
Bacillus *Sporosarcina* (كروية)	*Sporolactobacillus*	*Clostridium* *Desulfotomaculum* *Oscillospira*

C1 - الأجناس الهوائية المتجرثمة داخليا : Aerobic sporeformers

Bacillus

أنواع هذا الجنس عصوية ، وقد تكوّن سلاسل ، وأغلبها مترمم غير ضار ، يعيش فى التربة والمياه .

وتقسم أنواع هذا الجنس إلى ثلاث مجموعات ، حسب شكل الجرثومة ، وموضعها وحجمها بالخلية الخضرية الحاملة لها (الاسبورانجيوم) [شكل ٧ (٢)-٦] .

والمجموعات الثلاث هى

المجموعة الأولى

هذه المجموعة أغلبها ذات جراثيم مستديرة أو بيضاوية ، والخلية الاسبورانجية غير منتفخة . من الانواع التابعة لهذه المجموعة

B. anthracis* , *B. cereus* , *B. licheniformis* , *B. megaterium* , *B. subtilis*, *B. thuringiensis

---

* أنظر أجناس بكتيرية متجرثمة داخلياً ، مثل *Thermoactinomyces* [شكل ٧ (٢) – ٢٣] ، ص ٤٢٥ ، وجدول ٧ (٢) – ٧] ، ص ٤١٩ ، مجموعة الأكتينومايسيتات .

أ - *B. megaterium* : عصويات طويلة عملاقة نسبيا ، ٢ × ٥ ميكرومتر .

ب - *B. subtilis & B. cereus* : بكتريا مترممة محبة للحرارة المتوسطة ، تفـــرز إنزيماتـــا قادرة على تحليل كثير من السكريات والبروتينات .

1 2 3 4 5 6

شكل ٧ (٢)-٦ : خلايا الاسبورانجيا وبداخلها الجرثومة

لاحظ من الشكل

أ - خلايا اسبورانجيا غير منتفخة

1- *B. megaterium* : جرثومة بيضاوية وسطية .

2- *B. thuringiensis*: جرثومة بيضاوية طرفية ، مع وجود بللورة بروتينية قرب الجرثومة .

ب - خلايا اسبورانجيا منتفخة

3 - *B. macerans* : جرثومة بيضاوية طرفية ، والاسبورانجيا منتفخة وتشـــبه مضـــرب التنـــس Tennis-raquet .

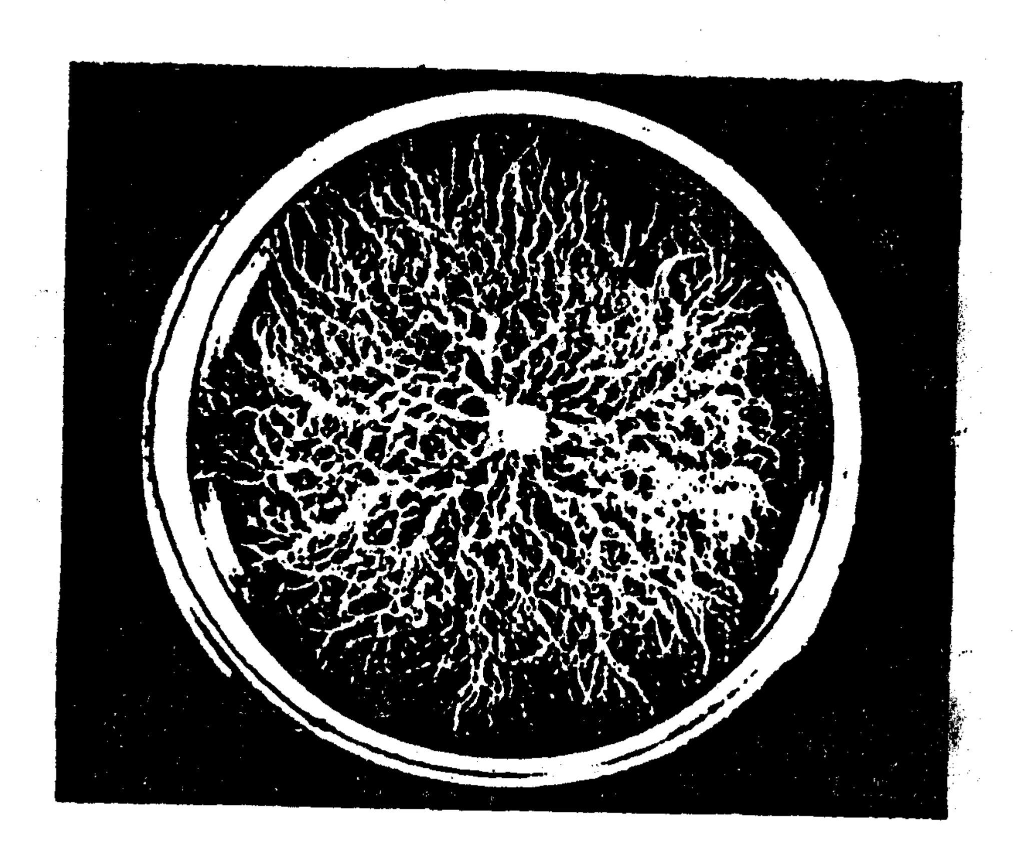
4- *B. polymyxa* : جرثومة بيضاوية وسطية ، والاسبورانجيا منتفخـــة فـــى الوســـط كالقـــارب Boat-like .

5- *B. sphaericus* : جرثومة مستديرة طرفية ، والاسبورانجيا منتفخة فى الطرف كعصا الطبلـــة Drum-stick .

6- *B. laterosporus* : جرثومة بيضاوية جانبية ، والاسبورانجيا منتفخة قـــرب الطـــرف كالمغزل Spindle .

وتوجد *B. subtilis* بكثرة في القش لذا تسمى أحيانا ببكتريا القش Hay bacterium ، وهى تفرز مضاداتا حيوية عديدة الببتيدات .

ويوجد سلالات من *B. cereus* تسبب تسمماتا غذائية ، كما أن منها السلالة *B. cereus* var. *mycoides* ، التى تكون على سطح الآجار بالبيئة الصلبة ، مستعمراتا تشبه في مظهرها النمو الفطرى [شكل ٧ (٢)-٧] .



شكل ٧ (٢)-٧ : النمو الخيطى ، الفطرى المظهر، لبكتريا *Bacillus cereus* var. *mycoides* على سطح بيئة الآجار

جـ - *B. anthracis* : غير متحركة ، ومحاطة بكابسول يحتوى على حامض الجلوتاميك، والبكتريا ممرضة للانسان والحيوان ، وتسبب مرض الحمى التفحمية Anthrax .

د - *B. licheniformis* : تفرز مضاداتا حيوية عديدة الببتيدات ، وهى قادرة على القيام بالتخمر .

هـ - *B. thuringiensis* : شديدة الشبه ببكتريا *B. subtilis* ، ويتكون بالاسبورانجيا بللورة سامة بجانب الجرثومة الداخلية ، وهذه البلوره سامة ليرقات بعض الحشرات خاصة تلك التابعة لرتبة حرشفية الأجنحة وغمدية الأجنحة ،لذا تستعمل هذه البكتريا بنجاح فى المكافحة الحيوية ضد الحشرات .

المجموعة الثانية

هذه المجموعة ذات جراثيم بيضاوية ، واسبورانجيا منتفخة

من الانواع التابعة لهذه المجموعة

B. circulans , B. macerans , B. polymyxa , B. stearothermophilus

أ - *B. polymyxa* : أخذت هذه البكتريا اسمها من افرازاتها المخاطية الغزيرة ، كما أنها تفرز 2,3 butanediol ، وهى بكتريا إختيارية للهواء ، وقادرة على تخمير السكريات مع انتاج غازات ، كما أنها قادرة على تثبيت نتروجين الهواء الجوى تحت ظروف لاهوائية .

ب - *B. stearothermophilus* : بكتريا محبة للحرارة المرتفعة ، درجة حرارة نموها المثلى من ٥٥ الى ٦٥°م ، ولذلك فهى تسبب فساد الأغذية المعلبة .

المجموعة الثالثة

هذه المجموعة ذات جراثيم مستديرة ، تقع فى طرف الأسبورانجيا ،

من الأنواع التابعة لهذه المجموعة *B. pasteurii*

وهذه البكتريا تتحمل الوسط القلوى ، وهى تفرز انزيم اليورييز الذى يحلل اليوريا الى نشادر و CO_2 .

ومن الأجناس الأخرى المتجرثمة داخليا التابعة للمجموعة C_1 [جدول ٧ (٢) - ٤]

١- *Sporosarcina*

مكورات فى تجمعات مكعبة الشكل [شكل ٧ (٢)-٨] ، ورغم أنها تتشابه مورفولوجيا مع بكتريا السارسينا ، إلا أنها تتشابه فسيولوجيا مع بكتريا الباسلس ، فهى هوائية ، متحركة ، متجرثمة داخليا ، مقاومة للحرارة المرتفعة .

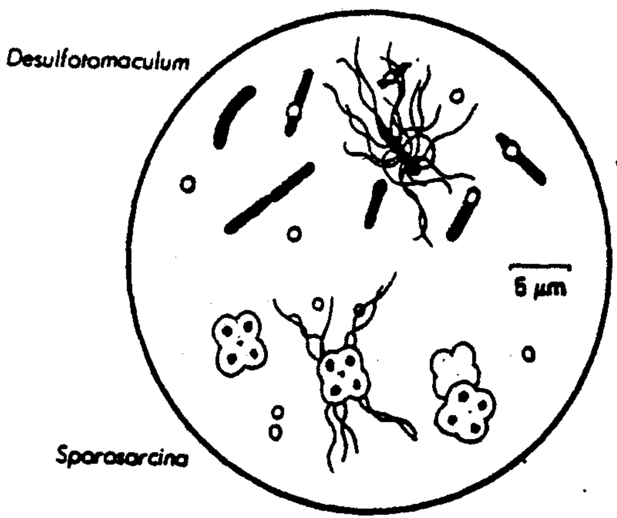
وهذه البكتريا كثيرة الانتشار بالأراضى ، وتحلل اليوريا الى نشادر و CO_2 .

ومن أنواعها ***S. ureae*** .

٢- *Sporolactobacillus*

من بكتريا حامض اللاكتيك العصوية ، محبة للأكسجين بكمية قليلة ، وهى متجرثمة داخليا، غير متحركة ، سالبة للكتاليز ، تحلل السكريات مع انتاج حامض لاكتيك .

من الأنواع التابعة *S. inulinus* .



شكل ٧ (٢) ٨ : رسم لخلايا *Sporosarcina* and *Desulfotomaculum*

لاحظ الجراثيم الداخلية والأسواط .

C2 – الأجناس اللاهوائية المتجرثمة داخليا : Anaerobic sporeformers

لاتحتاج هذه البكتريا فى نموها لأكسجين الهواء الجوى ، ومن أجناسها الهامة

Clostridium

لاتحتوى خلايا هذا الجنس غالبا على السيتوكرومات أو الكتاليز ، ويحتوى أغلبها على نسبة مرتفعة من إنزيمات الفلافين ، وعند تعرض الخلايا للهواء أو للأكسجين فانها تكوّن H_2O_2 السام لخلاياها .

غالبا ماتكوّن الجراثيم أعرض من الخلية الخضرية ، التى أنتجتها ، مما يسبب إنتفاخ خلايا الاسبورانجيا ، وهذه تأخذ أشكالا مختلفة تتوقف على حجم وموضع الجرثومة ، وذلك حسب نوع الكلوستريديا.[أنظر شكل ٧ (٢) - ٦].

أنواع جنس الكلوستريديا واسعة الانتشار ، فهى توجد بالأراضى والمياه والرواسب اللاهوائية ، وفى الجهاز المعوى للإنسان والحيوان . وهى قادرة على تخمير عدد كبير من المواد تتضمن السكريات والبروتينات والأحماض الأمينية وغيرها ، مع انتاج مواد عديدة منها حامض البيوتريك والاسيتون والبروبانول والبيوتانول وغازات منها H_2 , CO_2 .

لذلك يميز بين أنواع هذا الجنس حسب قدراتها التخميرية ، وحسب نواتج التخمر ... فمنها

- المحلل للسكريات Saccharolytic ، مثل

C. acetobutylicum, C. butyricum, C. cellulose-dissolvens, C. pasteurianum .

- المحلل للبروتينات Proteolytic ، مثل

C. botulinum, C. histolyticum, C. sporogenes, C. tetani.

- المحلل لحامض اليوريك Uric acid – degrading ، مثل *C. acidi-urici* .

من الأنواع الهامة لجنس الكلورستريديا

أ- ***C. botulinum*** المسبب للتسمم الغذائى المعروف باسم التسمم البوتشولينى Botulism .
الجرثومة فى هذا النوع قرب طرفية ، والاسورانجيا منتفخة قرب الطرف .

ب - ***C. pasteurianum*** : من بكتريا الأراضى ؛ وهى محبة للحرارة المتوسطة ، ومثبتة لنتروجين الهواء الجوى ,

جـ - ***C. perfringens*** : المسبب الرئيسى لعدوى الجروح المعروفة بالغرغرينا الغازية Gas gengrene . ومن هذا النوع ، سلالات تحدث تسممات غذائية .

د - ***C. tetani*** : مسبب حمى التتانوس . الجرثومة فى هذا النوع طرفية ، والاسبورانجيا منتفخة فى الطرف ، وشكلها كعصا الطبلة .

هـ - ***C. thermosaccharolyticum*** : محبة للحرارة المرتفعة ، حرارة نموها المثلى حوالى ٥٥°م ، وهى تسبب الفساد الغازى بالأغذية المعلبة .

ومن الأجناس الأخرى اللاهوائية التابعة للمجموعة C2

١- ***Desulfotomaculum***

توجد بالأراضى والمياه وأمعاء الحشرات وكرش المجترات . [أنظر شكل ٧ (٢)-٨] ، وهى متجرثمة داخليا وتحتوى على صبغات تنفسية شبيهة بالهيم ، وتحصل على طاقتها من إختزال الكبريت الى H_2S .

من الأنواع الهامة ***D. nigrificans, D. orientalis, D. ruminis,***

D. ruminis يوجد بكرش المجترات ، ويقوم بإختزال الكبريتات وانتاج H_2S .

٢- ***Oscillospira***

بكتريا عصوية ، حجمها كبير جدا (٥ × ١٠ ميكرومتر) ، تتجمع فى سلاسل ، وهى لاهوائية ومتجرثمة داخليا .

وتوجد هذه البكتريا فى كرش الحيوانات المجترة ، وفى الزائدة الدودية بخنازير غينيا .

من الانواع التابعة ***O. guillermondii*** .

D – البكتريا العصوية الموجبة لصبغة جرام غير المتجرثمة (منتظمة الأشكال) Non-sporing, Gram positive, Rods (Regular forms) [جدول ٧(٢)-٥].

ترتب هذه المجموعة حسب صفاتها المورفولوجية والفسيولوجية ، ومنها الهوائى مثل *Listeria* ، والاختيارى للهواء مثل *Brocothrix* ، والمحب لكمية قليلة من الأكسجين كبكتريا حامض اللاكتيك العصوية *Lactobacillus* .

جدول ٧ (٢)- ٥ : أجناس البكتريا العصوية الموجبة لصبغة جرام غير المتجرثمة (Group 19, Bergey's 1994) .

محبة لكمية قليلة من الأكسجين أو لاهوائية (D3)	لختيارية للهواء (D2)	هوائيـة (D1)
Lactobacillus	*Brocothrix*	*Caryophanon* (قرصية الشكل) *Erysipelothrix* *Kurthia* *Listeria* *Renibacterium*

وفيما يلى الصفات المميزة لأهم الأجناس العصوية (أو قرصية الشكل) ، الموجبة لصبغة جرام ، غير المتجرثمة ، الهوائية والاختيارية ، والمحبة لكمية قليلة من الاكسجين .

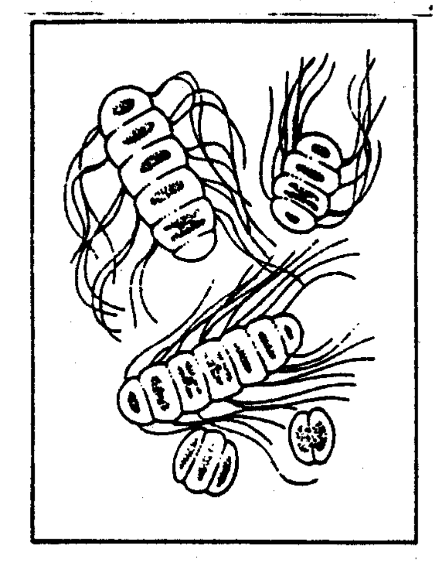
D1 – الأجناس الهوائية

١- *Caryophanon*

الخلايا قرصية الشكل ، كبيرة الحجم (٣ × ١٥ ميكرومتر) ، متراصة فى ترايكومات (خيوط طويلة) ، متحركة بأسواط محيطية (شكل ٧ (٢) – ٩) .

وهى هوائية ، مترممة ، وتوجد بروث الحيوانات المجترة كالأبقار .

من الانواع التابعة **C. latum** .



شكل ٧ (٢)-٩ : رسم لبكتريا *Caryophanon*
لاحظ الترايكوم ذو القطر ٣ ميكرومتر ، الذى يتكون من خلايا قرصية الشكل ، محيطية الأسواط .

٢- *Erysipelothrix*

عصويات مكونة لخيوط ، غير متحركة ، هوائية ، سالبة لاختبار الكتاليز . وهى متطفلة على الثدييات والطيور والأسماك ، وتسبب مرض الحُمرة Erysipelas (إلتهاب جلدى) بالخنازير ، ومرض الحمرانى (مرض شبيه الحُمرة) Erysipeloid بالإنسان .

٣- **Kurthia**

عصويات فى سلاسل ، متحركة بأسواط محيطية ، هوائية ، موجبة لاختبار الكاتاليز , وهى مترممة ، وتوجد باللحوم ومنتجاتها وفى روث الحيوان .

٤- **Listeria**

عصويات قصيرة جدا ، غالبا فى سلاسل ، متحركة بأسواط محيطية . وهى هوائية ، إلى محبة لكمية قليلة من الأكسجين ، موجبة لاختبار الكاتاليز .

النوع *L. monocytogenes* يوجد بكثرة فى مياه المجارى مصاحبا لبكتريا القولون ، وهو متطفل وممرض لعدد كبير من الحيوانات ، كما يصيب الأطفال بعد الولادة ، ويسبب بالكبار مايشبه الإلتهاب السحائى بالمخ .

٥- *Renibacterium*

عصويات قصيرة ، غير متحركة ، هوائية ، موجبة لأختبار الكاتاليز ، حرارة نموها المثلى من ١٥ الى ١٨°م ، وهى ممرضة للأسماك خاصة السالمون .

D2 - الأجناس الإختيارية للهواء Brocothrix

الخلايا عصوية ، غالباً فى خيوط طويلة ، غير متحركة ، إختيارية للهواء ، موجبة لإختبار الكاتاليز , وهى تنمو جيدا عند درجة حرارة من ٢٠ الى ٢٢°م ، وليس عند ٣٧°م ، وتوجد باللحوم ومنتجاتها .

من الأنواع التابعة *B. campestris*

D3 - الأجناس العصوية المحبة للأكسجين بكمية قليلة

بكتريا حامض اللاكتيك العصوية *Lactobacillus*

بكتريا عصوية فى سلاسل غالباً ، محبة لكمية قليلة من الأكسجين أو لاهوائيـــة ، غـير متجرثمة ، وعادة غير متحركة ، وهى ذات إحتياجات غذائية معقدة ، وتخمر الســكريات الى حامض لاكتيك [شكل ٧ (٢) - ٩ أ] .
منها ماهو متماثل التخمر* مثل

L. acidophilus, L. bifidus, L. bulgaricus, L. casei, L. delbrueckii, L. helveticus, L. lactis, L. plantarum, L. salivarius

ومنها ماهو خليط التخمر* مثل *L. brevis, L. fermentum, L. viridescens*

وبكتريا حامض اللاكتيك العصوية منها المترمم الذى يوجد فى الألبان حيث تلعـــب دورا هاما فى الألبان ومنتجاتها ، أو تستعمل كبادىء فى الصناعات اللبنية

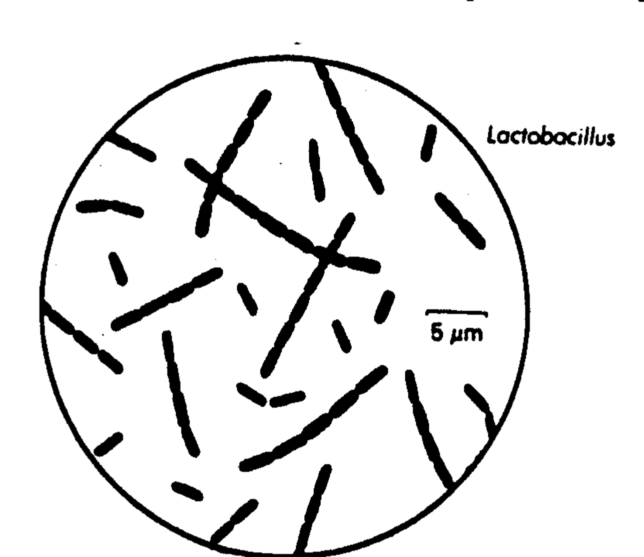
ومن أمثلتها *L. acidophilus, L. bulgaricus, L. casei, L. lactis*

أو تستخدم فى انتاج حامض اللاكتيك تخميريا مثل *L. bulgaricus, L. delbrueckii*

وقد توجد فى نواتج التخمر النباتية والحيوانية مثل

L. brevis, L. delbrueckii, L. fermentum, L. plantarum

وقد توجد كمتطفلة فى الفم والانسجة المخاطية والمهبل والقناة الهضمية للإنسان وحيوانات ذوات الدم الحار ، مثل *L. acidophilus, L. bifidus* .



شكل ٧ (٢) - ٩ أ

بكتريا *Lactobacillus*

---

* أنظر تذيل ص ٣٩٢

البكتريا العصوية أو الخيطية الموجبة لصبغة جرام

تضم هذه المجموعة ، البكتريا العصوية الموجبة لصبغة جرام غير المتجرثمة ، المعروفة بمجموعة الكورين Coryneforms (E) ، كما تضم البكتريا الخيطية ، الموجبة لصبغة جرام ، المعروفة بمجموعة الأكتينومايسيتات Actinomycetes (F) .

E - البكتريا العصوية الموجبة لصبغة جرام غير المتجرثمة (غير منتظمة الأشكال) - مجموعة الكورين

Non-sporing , Gram positive , Rods (Irregular forms) [جدول ٧ (٢) - ٦]

E1 - مجموعة بكتريا الكورين : Coryneforms

مجموعة بكتيرية تمثل مجموعة وسطية من حيث الخواص المورفولوجية والفسيولوجية، بين بكتريا حامض اللاكتيك والمايكوبكتريا . فخاصية تفرع الخلايا تزداد في بكتريا البروبيونيك والكورين والمايكوبكتريا ، كما تزداد في هذه المجموعة خاصية التحول من الايض اللاهوائي الى الأيض الهوائي .

وتمتاز مجموعة بكتريا الكورين بأن خلاياها عصوية مستقيمة أو منحية قليلا ، وقد يوجد بالخلايا انتفاخات ، وهي موجبة لصبغة جرام ، غير متجرثمة ، منها الهوائي والاختياري واللاهوائي .

جدول ٧ (٢)-٦ : أجناس البكتريا العصوية ، الموجبة لصبغة جرام ، غير المتجرثمة .
مجموعة الكورين Coryneforms (E)
(Groups 20, 21 & 22, Bergey's 1994)

هوائية أو إختيارية (E1 & E2)	لاهوائيـــــة (E3)
E1 مجموعة بكتريا الكورين	*Actinomyces*
Agromyces	
Arachnia	*Bifidobacterium*
Arthrobater	
	Eubacterium (Butyribacterium)
Brevibacterium	
Cellulomonas	*Propionibacterium*
Clavibacter	
Corynebacterium	
Microbacterium	
Mycobacterium	
E2 مجموعة النوكارديا	
Nocardia	
Pseudonocardia	

من أهم الأجناس التابعة لمجموعة الكورين

أجناس هوائية أو إختيارية

١- Agromyces & Arachnia

بكتريا شبيهة ببكتريا الدفتريا ، وهى سالبة لإختبار الكاتاليز .

الأجرومايسس مترمم ويوجد بالاراضى .

أما الأراكنيا فهو اختيارى للهواء ، ممرض للإنسان والحيوان ، ويسبب أمراضا شبيهة بأمراض الأكتينومايسيتات Actinomycosis .

٢- *Arthrobacter*

بكتريا الأرثروباكتر عصوية ، هوائية ، وتتميز بأن لها دورة نمو ، خلال حياتها ، تمر خلالها من الكروى الى العصوى Rod-coccus cycle .
ففى طور النمو اللوغاريتمى تأخذ الخلايا أشكالا عصوية غير منتظمة وقد تتفرع .
وفى طور الثبات تكون الخلايا كروية الشكل ، وبإعادة زرع الخلايا فى بيئة جديدة ، فانها تعطى ثانية أشكالا عصوية .
البكتريا مترممة ، وهى من بكتريا الأراضى ، ومنها المتحمل للجفاف ، ومنها مايفرز صبغات زرقاء اللون ، ومنها مايوجد على النباتات .

من الانواع التابعة *A. atrocyaneus, A. globiformis*

٣- *Brevibacterium*

هوائية ، ولها دورة نمو من الكروى الى العصوى مثل بكتريا الأرثروباكتر .

والنوع *B. linens* ، متحمل للملوحة ، ويكون مستعمراتا صفراء اللون على البيئة الصلبة ، وهو محلل للبروتينات ، ويلعب دورا فى اكساب بعض أنواع الجبن مثل جبن القوالب Brick cheese ، طعماً مميزا .

ومن الانواع التابعة *B. divaricatum*

٤- *Cellulomonas*

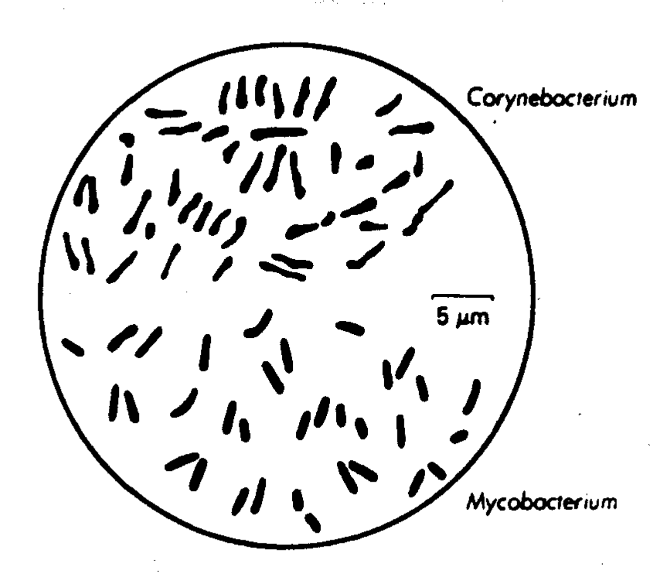
عصويات غير منتظمة الشكل وقد تكون خيطية ، لها قدرة عالية على تحليل السليلوز واستخدامه كمصدر للكربون والطاقة .

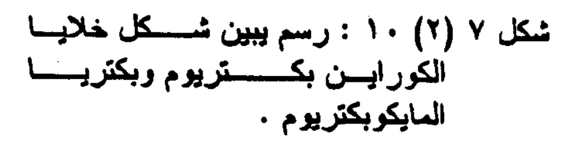
٥- *Corynebacterium* [أشكال ٧ (٢) - ١٠ ، ١١ ، ١٢]

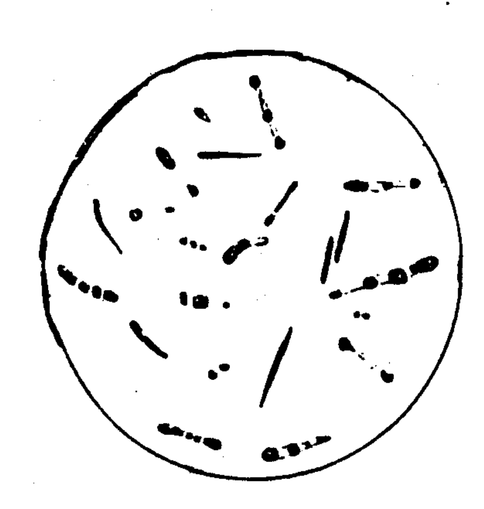
الخلايا عصوية وقد تتفرع ، وغالبا بها انتفاخات ، ومعظمها هوائى ، وتأخذ الخلايا ترتيبا مميزا لها يسمى بالترتيب السياجى أو العمادى * Palisade arrangement .

---

* الترتيب السياجى أو العمادى ، هو نظام لتجمع خلايا البكتريا الأسطوانية الشكل ، حيث تتراص الخلايا الاسطوانية بجوار بعضها كأوتاد السياج .

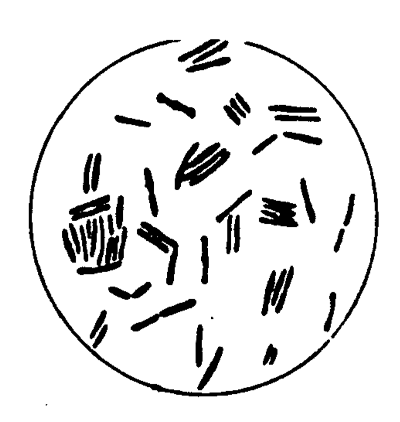



شكل ٧ (٢) ١٠ : رسم يبين شـــكل خلايـا الكوراين بكــتريوم وبكتريـــا المايكوبكتريوم .



شـــــــكل ٧ (٢) ١١ : بكتريــــــــا *Corynebacterium diphtheriae* مصبوغة بصبغة أزرق مثلين ليفلر .

لاحظ : اختلافات الطول ، وتعدد الأشــكال ، وحبيبات الفوليوتين المصبوغــة الموجــودة بالخلايا كحبيبات ، أو كشرائط ، أو قد تمـلأ الخلية كلها (× ٩٠٠) .



شـــــــكل ٧ (٢) ١٢ : بكتريــــــــا *Corynebacterium xerosis* ، تعيش طبيعيا بزور الانسان

لاحظ : تعدد الأشكال والأحجام والـــترتيب السياجى (× ١٠٠٠)

وتخزن الخلايا بداخلها مادة الفوليوتين (حبيبات ميتاكروماتينية) ، تأخذ لونـــا محمـــرا مــع صبغة أزرق المثلين المخففة ، كما أن جدر الخلايـــا يحتـــوى علـــى حـــامض مـــايكوليك* مـــــــن نـــوع Corynemycolic acid (يحتوى على ٣٢ الى ٣٦ ذرة كربون) .
ومن هذه البكتريا مايكون مستعمراتاً صفراء اللون على البيئة الصلبة .

يقسم جنس كوراين باكتريوم حسب تعايشه ، الى ثلاث مجموعات رئيسية

- **مجموعة مترممة** : توجد بالأراضى والمياه .
- **مجموعة ممرضة للنبات** ، مثل *C. michiganense* .
- مجموعة ممرضة للحيوان والانسان ، مثـــل *C. diphtheriae* المســـببة لمـــرض الدفتريـــا بالانسان ، وتفرز هذه البكتريا توكسينات خارجية تسير مع تيار الدم بالجسم ، تصيب أجـــزاء عديدة منه كالكلى وعضلة القلب . ويُفرز هذا التوكسين عند وجود تركيز مناسب من الحديـــد وفاج معين بالبكتريا ، يحمل الجين الخاص بإفراز هذا السم .

٦- *Microbacterium*

عصويات قصيرة غير منتظمة الشكل ، وهى مترممة وتوجد بالألبـــان ومنتجاتـــها ، وفـــى أوعية اللبن .

٧- *Mycobacterium*

عصويات هوائية ، غير متحركة ، مستقيمة أو منحنية قليلاً وقـــد تتفـــرع . يوجـــد بجـــدر خلاياها حامض مايكوليك Mycolic * ذو حوالى ٨٥ ذرة كربون ، وهذا الحامض يجعـــل الخلايا شمعية ويكسبها صفة كره المـــاء Hydrophobic ، وصفـــة الصمـــود للأحمـــاض Acid-fastness .

تمتاز خلايا هذا الجنس بأنها صامدة للأحماض ، بمعنى أن الخلايا المصبوغـــــة بكـــاربول الفوكسين ، لاتزول منها الصبغة بمعاملتها بالكحول الحامضى .

---

* حامض مايكوليك : حامضى بيتا دهنى ايدروكسيلى ، طويـــل السلســـلة الكربونيـــة ، متفـــرع ، رمـــزه العـــام $R_1-CHOH-CH-R_2-COOH$ ، حيث R_1, R_2 تمثل مجاميع الكايل .

يختلف طول سلسلة الحامض من ٣٢ الى ٣٦ ذرة كربون فى بكتريا الكورين ، ومـــــن ٤٥ الى ٥٨ ذرة كربـــون فى النوكارديا ، ومن ٧٩ الى ٨٥ ذرة كربون فى المايكوبكتريا .

وحامض المايكوليك طويل السلسلة هو الذى يعطى للخلية البكتيرية صفة الصمود للصبغ الحامضى .

من أنواع جنس المايكوبكتريوم

١- المترمم غير الضار

مثل *M. phlei* ، وهى تكون مستعمراتا خشنة مجعدة ، صفراء اللون على البيئة الصلبة ، وهى منتشرة بالأراضى ، وكذلك فى القش والتبن .

٢- الممرض ، مثل

- *M. tuberculosis* ، المسبب لمرض الدرن الرئوى للإنسان

وهى تكون مستعمراتا خشنة مجعدة ذات لون ابيض باهت أو مصفر على البيئة الصلبة ، وزمن تضاعفها حوالى ١٥ ساعة .

ومن أنواع المايكوبكتريا الأخرى الممرضة

- *M. avium* ، ويسبب السل فى الطيور والانسان
- *M. bovis* ، ويسبب السل فى البقر والانسان
- *M. leprae* ، ويسبب للانسان مرض الجذام Leprosy ،

وبكتريا الجذام بطيئة النمو ، ولم يمكن تنميتها على بيئات عادية حتى الآن .

E2 - مجموعة النوكارديا *Nocardioforms* ، النوكارديات

مجموعة من الأجناس التى تشبه جنس النوكارديا فى صفاته وفى تركيب جدر خلاياه ، لذا سميت (بمجموعة النوكارديا Nocardioforms) ، وهى تمتاز بأنها هوائية ، تكون ميسليوم تحتى Substrate من هيفات متفرعة تمتد تحت سطح بيئة الأجار ، وعادة مايتجزأ الميسليوم التحتى الى خلايا كروية وعصوية ، كما أن بعض الأجناس تكون ميسليوم هوائى Aerial يحمل جراثيم كونيدية فى سلاسل ، كما أنه يوجد بجدر خلايا كثير من أجناسها ، حامض نوكارديو مايكوليك Nocardiomycolic acid ، ولكن بكتريا جنس النوكارديا فقط هى الصامدة للصبغ الحامضى .

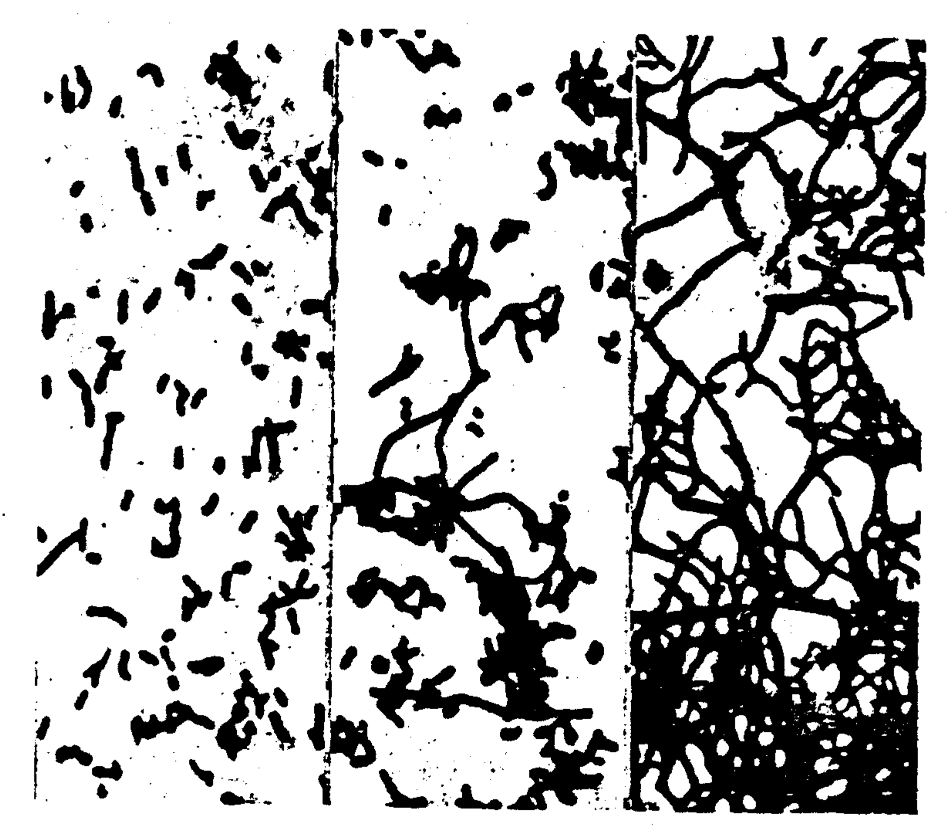
من الأجناس التابعة لمجموعة النوكارديا

١- *Nocardia*

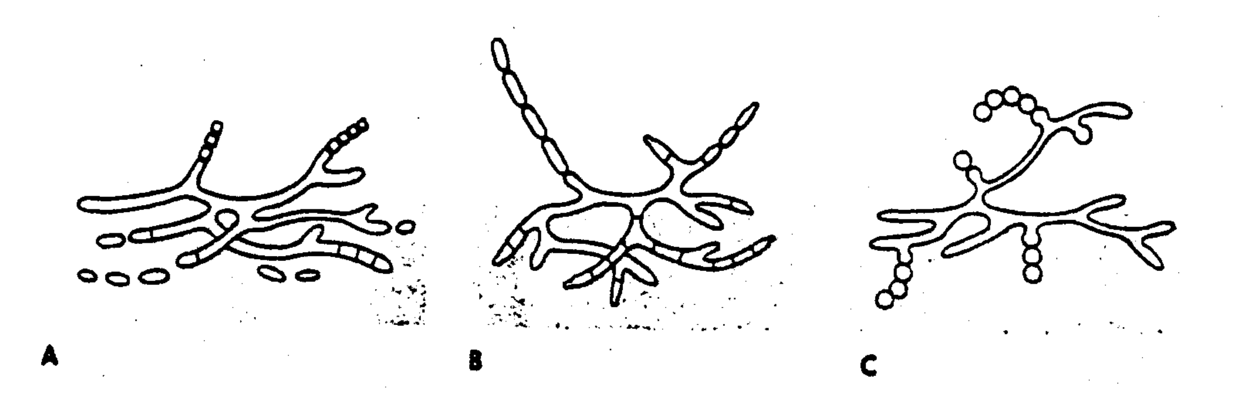
أنواع هذا الجنس هوائية ، صامدة للأحماض ، غير متحركة ، يتروواح شكل خلاياها من الكروى الى العضوى الى الخيطى المتفرع ، وذلك نتيجة تفرع الميسليوم التحتى وتجزؤه ، وقد تحمل الهيفات الهوائية سلاسل من الجراثيم الكونيدية [أشكال ٧ (٢) - ١٣ و ١٤] ...

النوكارديا مترممة ، وتوجد بكثرة فى الأراضى والمياه ، وبعض أنواعها ممرضة للانسان والحيوان مسببة ورما يسمى Actinomycetoma .

ومن الأنواع التابعة *N. asteroides & N. opaca* .



شكل ٧ (٢) ١٣ : *Nocardia asteroides*
ثلاث سلالات لنفس البكتريا توضح الاختلاف فى الشكل المورفولوجى (× ١٠٠٠) .



شكل ٧ (٢) ١٤ : رسم تخطيطى يوضح الميسليوم الهوائى والميسليوم المتعمق بالبيئة لبكتريا مجموعة النوكارديا .

A – *Nocardia*
- ميسليوم هوائى يحمل سلاسل من الجراثيم الكونيدية
- وميسليوم متعمق بالبيئة ، متفرع ومتجزىء

B – *Pseudonocardia*
- سلاسل جرثومية بالهيفات الهوائية
- تبرعم وامتداد الهيفات المتعمقة بالبيئة .

C – *Micropolyspora*
جراثيم مستديرة فى سلاسل على الهيفات الهوائية وعلى الهيفات التحتيه المتعمقة بالبيئة

٢- *Pseudonocardia*

لاتحتوى جدر خلايا هذا الجنس على حامض المايكوليك ، وهى خلايا غير صامدة للأحماض ، وتمتد وتستطيل الهيفات التحتية بالبيئة بالتبرعم ، وتبقى البراعم متصلة ببعضها، [شكل ٧ (٢) B١٤] ، وتحمل الهيفات الهوائية جراثيم كونيدية عصوية الشكل فى سلاسل طويلة، ومن أنواع هذا الجنس ماهو محب لدرجات الحرارة المتوسطة ، ومنه ماهو محب لدرجات الحرارة العالية .

أنواع هذا الجنس مترممة ، وتوجد بالاراضى والمياه والأسمدة العضوية .

ومن الأنواع التابعة *P. thermophila* .

E3 - أجناس لاهوائية

١- Actinomyces

الخلايا خيطية متفرعة ، وأحيانا تكون متعددة الأشكال ، وهى غير متجرثمة ، غير متحركة ، لاهوائية ، معقدة التغذية ، مخمرة للكربوهيدرات مع إنتاج حامض أستيك مصحوباً بفورميك ولاكتيك وسكسنيك .

توجد أنواع هذا الجنس بالتجويف الفمى وبالجهاز التناسلى للإناث ، ومنها أنواع ممرضة للإنسان مثل *A. israelii* المسبب لمرض Actinomycosis ، ومنها الممرض للحيوان مثل *A. bovis* المسبب لمرض الفك المتكتل Lumpy jaw بالأبقار .

وكان هذا الجنس فيما سبق ، يتبع مجموعة الأكتينومايسيتات فى التصنيف ، ولكنه نقل الى مجموعة الكورين لتشابهه معها فى الصفات .

٢- *Bifidobacterium*

عصويات متعددة الأشكال ، غير متحركة ، تحتاج فى نموها إلى وسط هوائى به حوالى ١٠% CO_2 ، وهى مخمرة للكربوهيدرات مع إنتاج حامض لاكتيك ، (والبعض يعتبرها من بكتريا حامض اللاكتيك خليطة التخمر) .

وهى توجد بالجهاز الهضمى للإنسان والحيوان ، وغير ممرضة .

من الأنواع التابعة *B. bifidum* .

٣- *Eubacterium*

متعددة الأشكال ، منها المتحرك وغير المتحرك ، مخمرة للكربوهيدرات مع إنتاج حامض بيوتريك مع أحماض أخرى مثل الفورميك والأستيك .

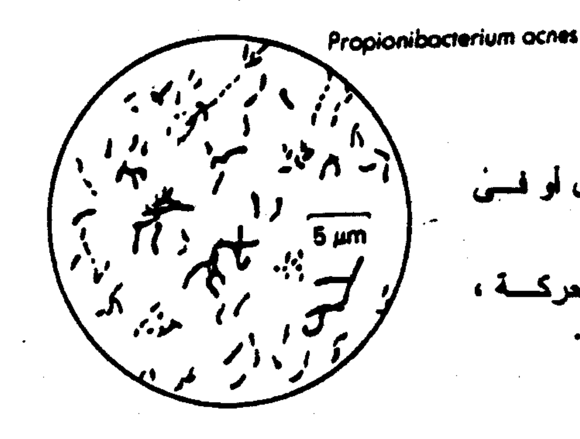
توجد بتجويف الفم والجهاز الهضمى للإنسان والحيوان وفى الأغذية الفاسدة ، وهى غير ممرضة .

٤- *Propionibacterium*

عصويات قصيرة متعددة الأشكال [شكل ٧ (٢)- ١٥] ، غير متحركة ، تتعدد من لاهوائيـة الى متحملة لكمية قليلة من الأكسجين ، وهى مخمرة للكربوهيدرات مـــع انتــاج حــامض بروبيونيك واستيك .

منها مايوجد بالألبان ومنتجاتها ، ومنها النوع *P. shermanii* الذى يستخدم فى تسوية الجبن السويسرى ، ومنها مايوجد طبيعيا على الجلد وفى الجهاز الـــهضمى للإنســان والحيــوان وبكرش المجترات .

ومنها الممرض مثل *P. acnes* [شكل ٧ (٢)-١٥] الذى يوجد على سطح الجلـــد ، وهــو المسبب لمرض حب الشباب الشائع **Acne vulgaris** .



شكل ٧ (٢)-١٥ : رسم لبكتريا

Propionibacterium acnes

البكتريا عصوية قصيرة فـــى سلاســل أو فـــى تجمعات بأشكال Y, V

والبكتريا موجبة لصبغة جرام ، غير متحركـــة ، لاهوائية ، منتجة لحامض البروبيونيك .

وتوجد على سطح الجلد .

F- البكتريا الخيطية الموجبة لصبغة جـــرام Gram-positive, Filamentous مجموعة الأكتينومايسيتات Actinomycetes [جدول ٧ (٢) - ٧]

استمدت مجموعة الأكتينومايسيتات اسمها ، من اسم أول نوع تم التعرف عليه ووصفه وهو *Actinomyces bovis* الممرض للماشية ، وهو لاهوائى ، وقد فُصل هذا النوع حاليا مـــن مجموعة الأكتينومايسيتات ، وأضيف لمجموعة بكتريا الكورين اللاهوائية [جـــدول ٧ (٢)-٦] ، لتشابهه مع مجموعة بكتريا الكورين فى الصفات .

وتضم مجموعة الأكتينومايسيتات ، بكتريا أغلبها هوائى ، وهى موجبـــة لصبغـــة جـــرام ، خيطية ، حيث تكون هيفاتا متفرعة كالفطريات ، غير أن هيفات الأكتينومايســـيتات أرفـــع (قطرها حوالى ١,٠ ميكرومتر) من هيفات الفطريات (قطرهـــا حوالـــى مـــن ٥ الـــى ١٠ ميكرومتر) ، كما أن الأكتينومايسيتات تكون جراثيم تكاثر لاجنسية قد تكون عارية وتســـمى جراثيم كونيدية Conidiospores ، أو بداخل أوعية خاصة (أسبورانجيا) وتســـمى جراثيـــم اسبورانجية Sporangiospores .

وجراثيم الأكتينومايسيتات غير شديدة المقاومة للحرارة كالجراثيم الداخلية للبكتريـــا ، فـــهى تُقتل عند درجة ٦٥°م بعد ١٠-٣٠ دقيقة ، ولكنها مقاومة للجفاف وتساعد الكائن على البقاء حيا فى فترات الجفاف .

ويمكن زراعة أغلب الأكتينومايسيتات على بيئات بسيطة ، ذات مصدر عضوى مناســـب، ويمكن التمييز بين أجناسها بطبيعة نموها ، فى أو على سطح الأجار ، وتكوينها لميســـليوم تحتى وهوائى ، والتركيب الكيميائى للجدار الخلوى ، ، وطبيعة ماتكونه من جراثيم كونيدية واسبورانجية [شكل ٧ (٢)-١٦] .

الميسليوم التحتى (الخضرى) يكون ملتصقا بالبيئة الصلبة ، ويتفرع تحت سطح بيئة الأجار، ويختلف فى قطره وتفرعاته من نوع لآخر ، ويحدث بداخله كل العمليات الحيوية المختلفـــة اللازمة للخلية ، وقد يفرز الميسليوم بعض الصبغات المميزة سواء أكانت ذائبة فى المـــاء أو غير ذائبة، كما قد يحدث له تجزئه ، وقد يتكون بداخله جراثيم .

أما الميسليوم الهوائى فهو متفرع غير مقسم ، وأكبر فى قطـــره وأطـــول مـــن الميســـليوم التحتى ، وهو الذى يعطى الشكل العام للمستعمرة النامية على بيئة صلبة ، وقد يكون ملونا، ويعود ذلك إلى لون الجراثيـــم المتكونـــة ســـواء أكـــانت عاريـــة (كونيديـــة) أو داخليـــة (اسبورانجية) .

أغلب أنواع الأكتينومايسيتات مترممة غير ضارة ، وهى توجد بالتربة حيث تقـــوم بتحليـــل كثير من المواد العضوية المعقدة ، وأحد أجناسها (الفرانكيا) مثبت لنتروجين الهواء الجـــوى تكافليا مع أشجار الغابات ، كما أن من الأكتينومايسيتات أنواع تفرز مضاداتا حيويـــة ذات قيمة علاجية كبيرة ، وإضافة إلى ذلك فان بعض أنواع الأكتينومايسيتات ممرضـــة للنبـــات والحيوان والانسان .



شكل ٧ (٢)-١٦ : شكل يبين طبيعة النمو فى بعض أجناس الأكتينومايسيتات

a – شكل المستعمرة

b – قطاع عرضى فى النمو المتكون على سطح الآجار .

SM – شكل نمو الميسليوم التحتى بالبيئة .

AM – شكل نمو الميسليوم الهوائى .

sp – حامل اسبورانجى ، لاحظ تعدد أشكاله فى جنس الاستربتومايسيس

spa – حافظة اسبورانجية

spo – جراثيم اسبورانجية متحركة أو غير متحركة

وجدول ٧ (٢)-٧ يبين أهم أجناس الأكتينومايسيتات .
وشكلى [٧ (٢) ١٧ و ١٨] يبينان أشكال المجاميع الرئيسية للأكتينومايسيتات .

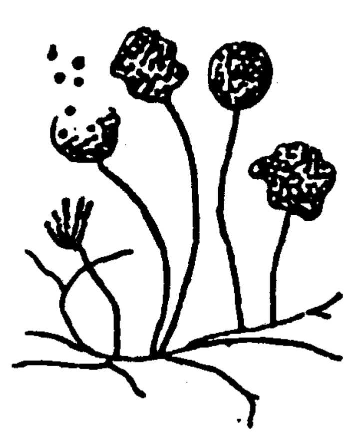
جدول ٧ (٢)- ٧ : أجناس البكتريا الخيطية الموجبة لصبغة جرام
مجموعة الأكتينومايسيتات (F) Actinomycetes
· (Groups 22 ... 29, Bergey's 1994)

مجموعة الأكتينومايسيس *Actinomyces* (F1)			مجموعة الاستربتومايسيس *Streptomyces* (F2)
الهيفا تنقسم فى مستوى واحد Group I	الهيفا تنقسم فى أكثر من مستوى Group II	ذات صفات خاصة Group III	
Actinoplanes *Ampullariella* *Spirillospora* *Streptospora-ngium*	*Dermatophilus* *Frankia.* *Geodermatophilus*	*Actinomadura** *Actinopolyspora* محبـــة للملوحة *Nocardiopsis* شبيـــه بالنوكارديـــا محبة للحرارة المرتفعة : *Thermoactinomyces* *Thermomonospora*	*Streptomyces* *Streptoverticillium*

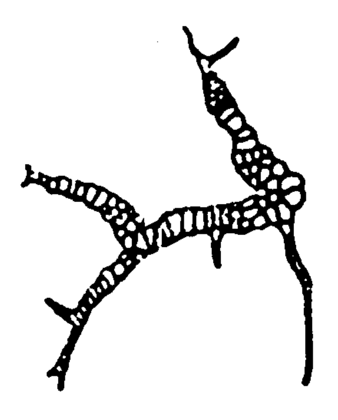
* منها أنواع ممرضة للإنسان .



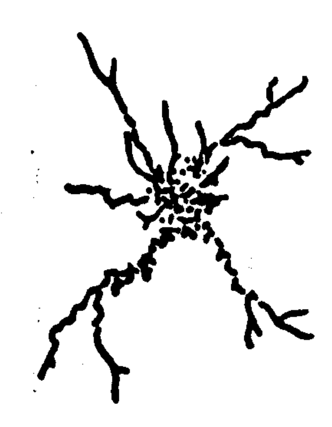
ctinomyces rothia
gromyces gordona



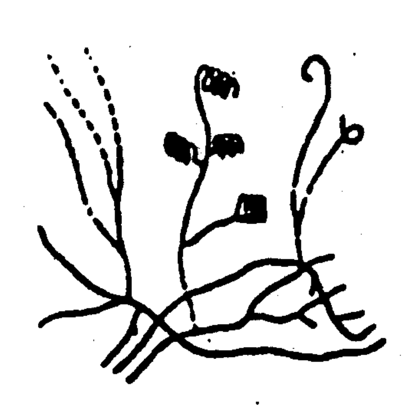
Actinoplanes



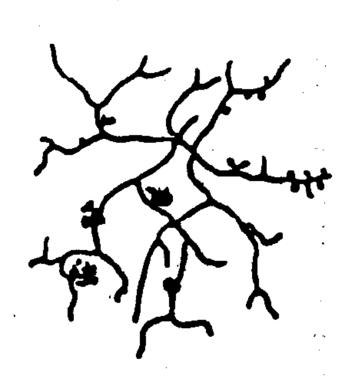
Dermatophilus



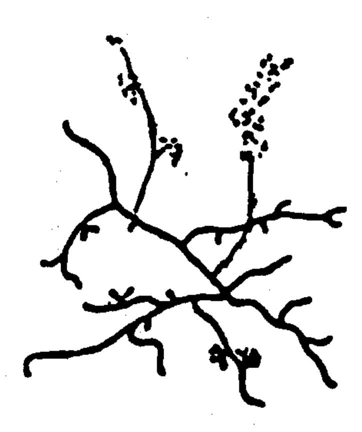
Nocardia



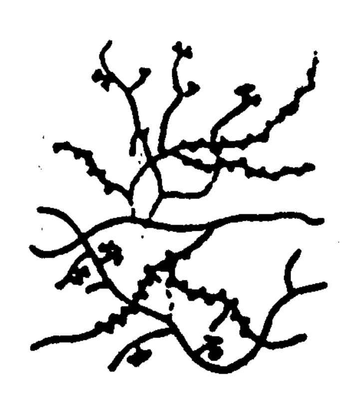
Streptomyces



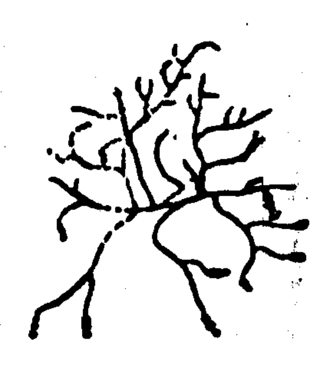
Micromonospora



Thermomonospora

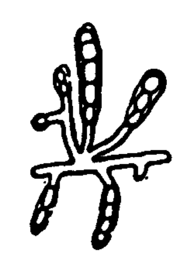


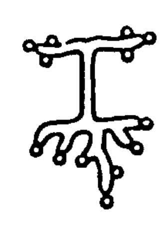
Thermoactinomyces

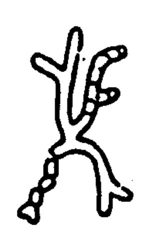


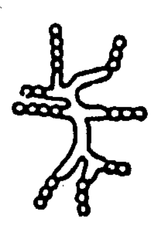
Micropolyspora

شكل ٧ (٢)-١٧ : رسم تخطيطي لبعض اشكال الأكتينومايسيتات

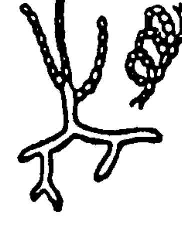


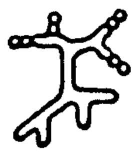
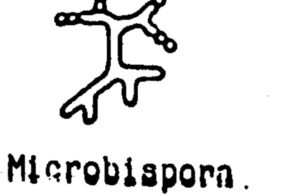


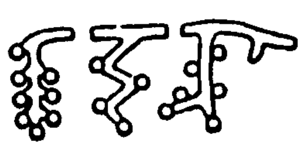
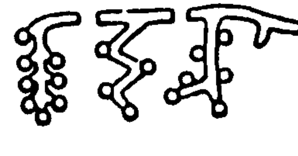


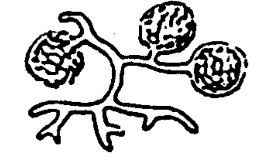








شكل (٧ (٢)-١٨ : المجاميع الرئيسية للأكتينومايسيتات

F1 - مجموعة الأكتينومايسيس Actinomyces group

تقسم الأكتينومايسيس [جدول ٧ (٢) - ٧] ، حسب المستوى الذى تنقسم فيه هيفاتها ، إلى ثلاثة مجموعات هى I ، II ، III .

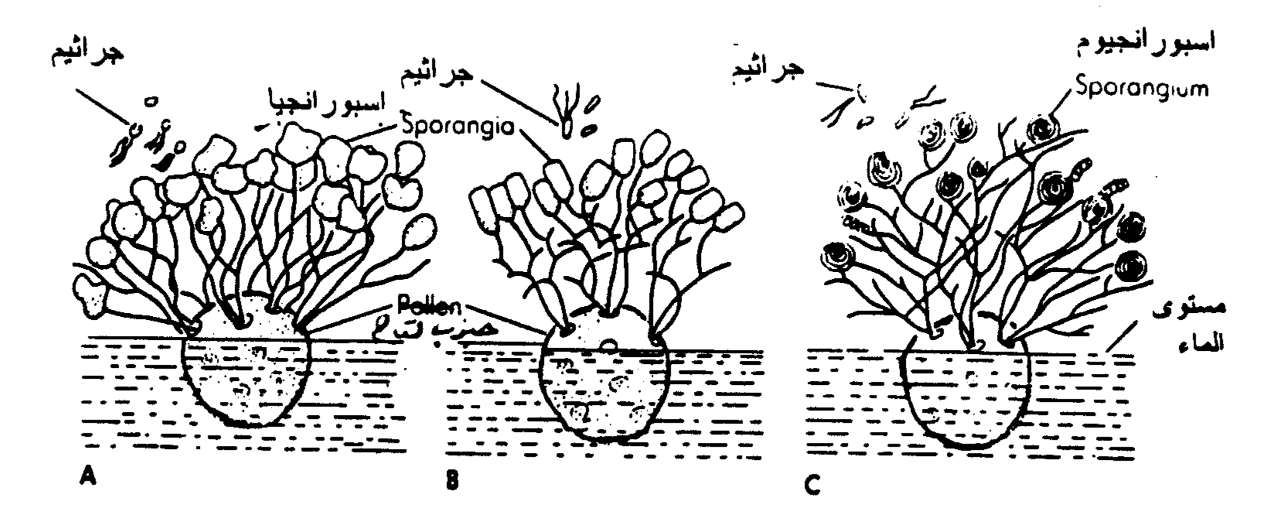
مجموعة I - بكتريا خيطية تنقسم هيفاتها فى مستوى واحد (عرضيا فقط أو طوليا فقط)

تكون هذه الأكتينومايسيتات ميسليوم تحتى وبعضها يكون ميسليوم هوائى ، وفى كلتا الحالتين ، فإنها تكون جراثيم اسبورانجية فى حافظة اسبورانجية يحملها حامل اسبورانجى ، وأحيانا فإن الجراثيم الاسبورانجية تكون ذات أسواط طرفية مما يساعدها على الحركة السابحة عند إنطلاقها من الاسبورانجيات (كما فى أجناس *Actinoplanes, Ampullariella* and *Spirillospora*) .

وهذه الأكتينومايسيتات غير ضارة ، وهى واسعة الانتشار ، وتوجد بالتربة والمياه ، وعلى أجزاء النباتات كالأوراق وحبوب اللقاح ، وعلى شعر الحيوان .

والأشكال [٧ (٢)- ١٩، ٢٠، ٢١] ، توضح أمثلة لبعض أجناس هذه المجموعة

من أجناس الأكيتنومايسيس



شكل ٧ (٢)-١٩ : رسم تخطيطي لثلاث أجناس من الأكتينومايسيتات تكون جراثيم اسبورانجية متحركة البكتريا نامية على حبة لقاح عائمة على سطح ماء

Actinoplanes : A

Ampullariella : B

Spirillospora : C (× ٣٥٠)



شكل ٧ (٢)-٢٠ :

Streptosporangium roseum

اسبورانجيا تحتوى على جراثيم غير متحركة ، قطر الاسبورانجيا حوالى ٨-٩ ميكرومتر .



شكل ٧ (٢)-٢١ : اسبورانجيا بكتريا *Actinoplanes rectilineatus*

لاحظ

- وجود الجراثيم فى صفوف طولية بداخل الاسبورانجيا .
- السهم يشير الى الجراثيم الاسبورانجية السابحة الخارجة من الاسبورانجيا الممزقة (×٧٥٠)

من أجناس هذه المجموعة

١- *Actinoplanes*

أنواع هذا الجنس توجد بالأراضى والمياه ، وهى ذات جراثيم اسبورانجية متحركة بأسواط طرفية ، تبلمر الأحماض الأمينية لتكون مضاداتا حيوية عديدة الببتيدات ، كما أنهـا قادرة على تخليق كثير من المضادات التى من نوع Polyene-type macrolides and Aromatic cyclic antibiotics

من الأنواع التابعة ***A. rectilineatus & A. philippinensis*** .

٢- ***Streptosporangium***

أنواع هذا الجنس محللة للسليلوز ، وتحمل الهيفات الهوائية أكياس الاسبورانجيا ، والجراثيم الأسبورانجية لهذا الجنس غير متحركة .

من الأنواع التابعة ***S. roseum*** .

مجموعة II - بكتريا خيطية تنقسم هيفاتها فى أكثر من مستوى (أى عرضيـا وطوليـا) لتكون تجمعات من الخلايا الكروية أو من الجراثيم .

وتوجد هذه المجموعة من الأكتينومايسيتات بالتربة ، ومنها المثبت لنتروجين الهواء الجوى تكافليا فى عقد بجذور أشجار الغابات ، كما أن منها الممرض للحيوان .

من أجناس هذه المجموعة

١- ***Dermatophilus*** : ممرض للحيوانات البرية والمستأنسة ، مسببا لها عدوى جلدية .
من أنواعه ***D. congolensis*** .

٢- ***Geodermatophilus*** : من بكتريا الأراضى ، **من أنواعه** ***G. obscurus*** .

٣- ***Frankia***

الفرانكيا ذات ميسليوم تحتى متفرع قليلا ، يحمل أكياسا أسبورانجية دائرية أو غير منتظمة الشكل ، تعطى جراثيم اسبورانجية غير متحركة ، عديمة اللون أو سوداء .

والفرانكيا ذات هيفات متفرعة ، تكون أطرافها حويصلات Vesicles كروية ، يعتقد أنـها مكان تثبيت نتروجين الهواء الجوى .

والفرانكيا محبة لكمية قليلة من الأكسجين ، وهى مثبتة لنتروجين الهواء الجوى تكافليا فى عقد جذرية لبعض أشجار الغابات غير البقولية مثل نبات الألدار *Alder* ، والألناس *Alnus* ، والكازورينا *Casuarina* .

من الأنواع التابعة ***F. alni*** ، الذى يتكافل مع جذور شجر الألناس .

مجموعة III - أجناس من مجموعة الأكتينومايسيس ذات صفات خاصة

الأجناس التالية تتبع مجموعة الأكتينومايسيس ، وتتميز بصفات خاصة

١- *Actinomadura*

- تكون جراثيم كونيدية فى سلاسل قصيرة بطرف الهيفا الهوائية .
- معظم الأنواع مترمم ، وتوجد بالأراضى .
- بعضها ممرض للانسان ، يسبب له ورما يسمى Actinomycetoma .

٢- *Actinopolyspora*

- تكون جراثيم كونيدية فى سلاسل طويلة بطرف الهيفا الهوائية [شكل ٧ (٢) - ٢٢].
- محبة للملوحة إجبارا ، حيث تتواجد فقط فى الأوساط التى تتراوح بها نسبة الملح (NaCl) ، من ١٠ الى ٣٠% .

*عزلت من الملح الجاف .



شكل ٧ (٢)-٢٢ : صورة بالمجهر الالكترونى لبكتريا *Actinopolyspora halophila* المحبة للملوحة المرتفعة (×٤٦٠٠) .

٣- *Nocardiopsis*

- تكون جراثيم كونيدية فى سلاسل طويلة بطرف الهيفا الهوائية .
- تتشابه مع جنس النوكارديا (مجموعة الكورين) [جدول ٧ (٢) - ٦] ، فى أن الميسليوم التحتى يتجزأ إلى خلايا كروية وعصوية .
- وتختلف عن النوكارديا فى أنها لاتحتوى على حامض مايكوليك ، وغير صامدة للصبغ الحامضى .

أغلب أنواع هذا الجنس مترمم بالتربة ، وأحيانا تكون ممرضة .

٤- *Thermoactinomyces*

- تكون جراثيم مفردة على نتوء قصير بطرف الهيفا الهوائية أو ملتصقة مباشرة على طول الهيفا [شكل ٧ (٢) - ٢٣] .
- تكون جراثيم داخلية بالهيفا ، كالبكتريا المتجرثمة داخليا ، وتخرج الجراثيم الداخلية بعد نضجها من الهيفا ، وتحتوى الجراثيم على حامض Dipicolinic ، وتتحمل الجراثيم الحرارة المرتفعة حتى درجة ٩٥°م لمدة ١٠ دقائق .
- أنواع هذا الجنس محبة للحرارة المرتفعة ، ودرجة حرارة نموها المثلى عند حوالى ٥٠°م ، وتتواجد بالأوساط المرتفعة الحرارة ، مثل أكوام الأسمدة العضوية .

من الأنواع التابعة *T. thalophilus & T. vulgaris* .



شكل ٧ (٢)- ٢٣ : بكتريا *Thermoactinomyces vulgaris*

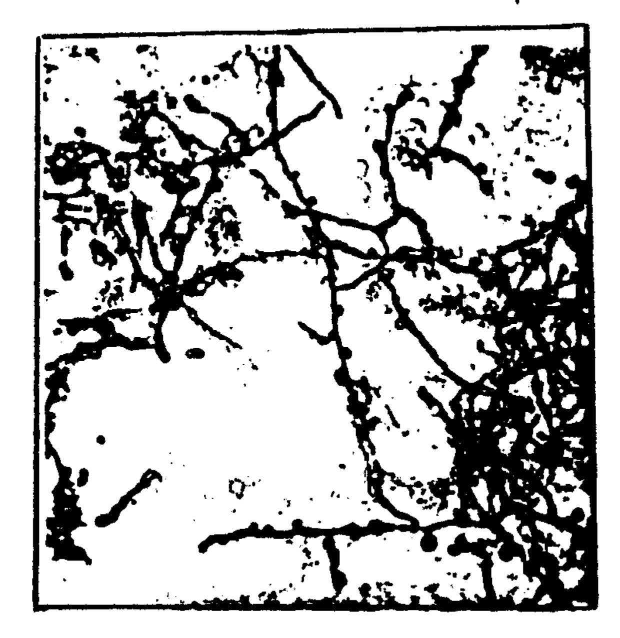
لاحظ

- الميسليوم الهوائى
- الجراثيم المفردة الجالسة على طول الهيفا (× ٦٠٠)

٥- *Thermomonospora*

- تكون جراثيم كونيدية بطرف أو على طول الهيفا الهوائية [شكل ٧ (٢) - ٢٤] .
- محبة للحرارة المرتفعة ، وتنمو جيداً على درجات حرارة بين ٣٥ الى ٤٥°م وهى تعيش فى الأوساط المرتفعة الحرارة مثل أكوام السماد العضوى .
- منها أنواع محللة للسليلوز .

من الأنواع التابعة *Th. mesophila* .



شكل ٧ (٢)- ٢٤

Thermomonospora mesophila

جراثيم كونيدية أحادية ، قطرها ١ ميكرومتر، توجد على طول الهيفا الهوائية وبطرفها

F2 - مجموعة الاستربتومايسيس **Streptomyces group** [جدول ٧ (٢) - ٧]

هيفات مجموعة الاستربتومايسيس تنقسم فى مستوى واحد ، وتكون جراثيم كونيدية يتراوح عددها ، بين ٥ إلى ٥٠ جرثومة ، وتوجد الجراثيم فى سلاسل طويلة بطرف الهيفا الهوائية .

ومستعمرات الاستربتومايسيس النامية على البيئة الصلبة عادة ماتكون جلمدة Tough ، ومظهرها مخملى ، وملتصقة بقوة بالبيئة لوجود هيفات تحتية بالبيئة ممتدة من المستعمرة النامية .

أغلب أنواع الاستربتومايسيس هوائية ، مترممة غير ضارة ، وتوجد بالأراضى ، وتتحمل الجفاف عن أنواع البكتريا الأخرى ، وتحلل الكثير من المواد العضوية المعقدة التى توجد بالتربة ، مثل السليلوز والكيتين ، ومثلها الأنواع التابعة لأجناس *Micromonospora* التى توجد جراثيمها الكونيدية مفردة على الهيفا ، وكذلك *Microbispora* التى توجد جراثيمها فى أزواج على الهيفا [أنظر شكل ٧ (٢)-١٦] .

كما أن النوع *S. griseus* يفرز زيوتا طيارة بالتربة تسمى Geosmin ، وهى عبارة عن 1, 10-dimethyl- 9- decalol ، وهذه الزيوت تعطى للتربة رائحتها المميزة ، خاصة بعد حرثها .

وتتميز أنواع جنس الاستربتومايسيس [جدول ٧ (٢)-٨] ، بأنها مفــــرزه لكثــير مـــن المضادات الحيوية ، ذات الأهمية العلاجية الهامة للنبات والحيوان والانسان . وبجـــانب ذلك فإن من أنواع جنس الاستربتومايسيس ماهو ممرض للنبات مثل *S. scabies* ، الذى يسبب مرض الجرب العــادى Common scab فــى البطــاطس والبنجـــر ، ومثــل *S. somaliensis* الممرض للانسان ، ويسبب له أوراما تسمى Actinomycetoma .

جدول ٧ (٢)-٨ : بعض المضادات الحيوية ، المنتجة من أنواع جنس *Streptomyces* .

اسم المضاد المنتج	نوع الأستربتومايسس
Chlortetracycline	*S. aureofaciens* ....
Erythromycin	*S. erythraeus* ....
Neomycin	*S. fradiae* ....
Streptomycin	*S. griseus* ....
Kanamycin	*S. kanamyceticus* ....
Amphotericin B	*S. nodosus* ....
Nystatin	*S. noursei* ....
Oxytetracycline	*S. rimosus* ....
Chloramphenicol	*S. venezuelae* ....
Tetracycline	*S. viridifaciens* ....

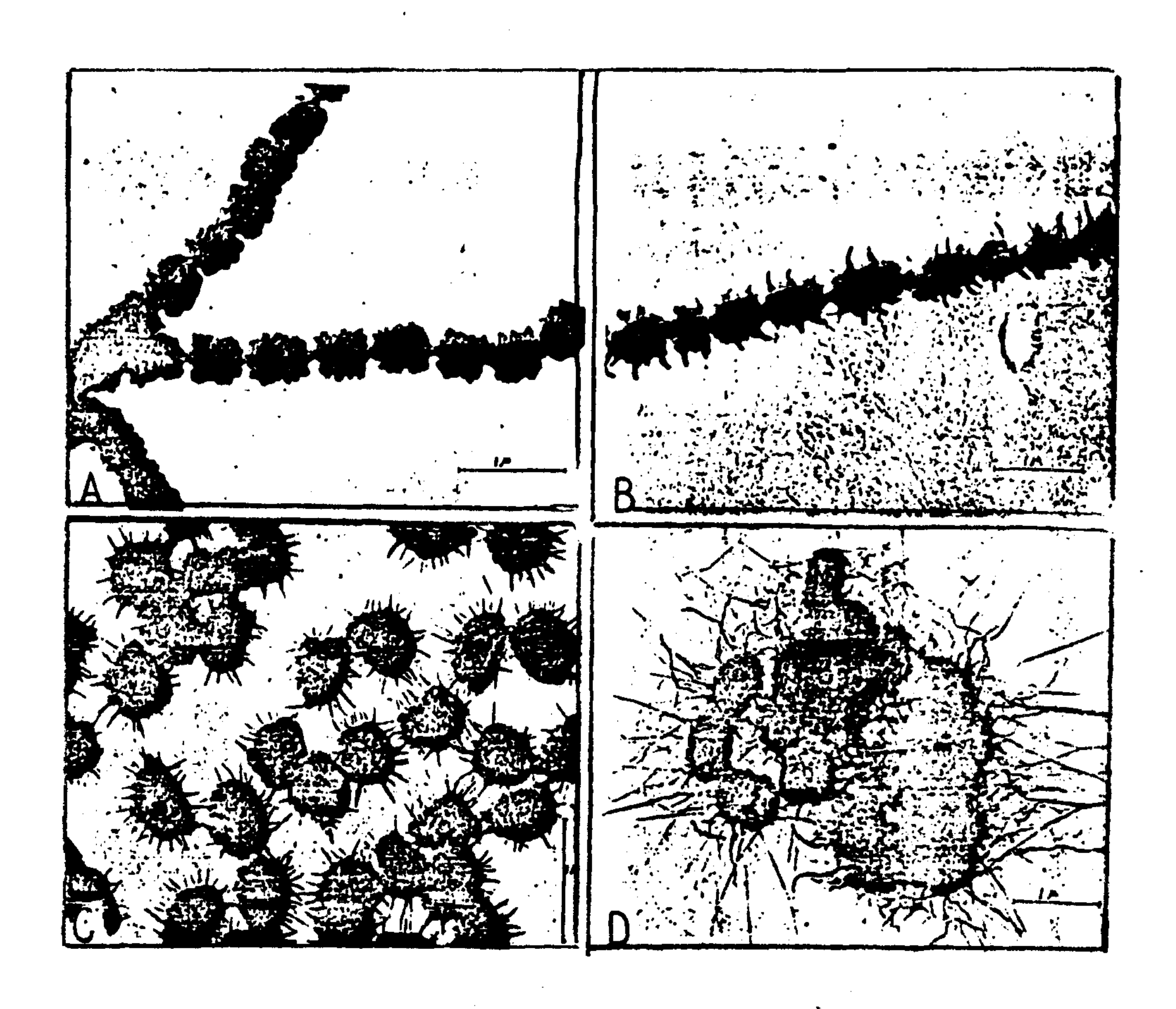
ومـــن أهـــم الأجنـــاس التابعـــة لمجموعـــة الاستربتومايســـيس ، أجنـــاس *Streptomyces & Streptoverticillium* .

ويميز بين أجناس وأنواع مجموعة الاستربتومايسيس ، بالصفات التالية

أ- سطح الجرثومة الكونيدية (بفحصها بالمجهر الالكترونى (تكبير ٨٠٠٠) ، فقد يكـــون ســـطح الجرثومة ناعما أو خشنا أو شائكا أو ذو شعيرات (شكلى ٧ (٢) - ٢٥ ، ٢٦) .



شكل ٧ (٢)-٢٥ : جراثيم كونيدية ذات شعيرات على سطح *Streptomyces acrimycini*
A : صورة بالمجهر الالكترونى النافذ . B : صورة بالمجهر الماسح (البار = ١ ميكرومتر)



شكل ٧ (٢)-٢٦ : مظهر السطح الخارجى للجراثيم الكونيدية لأنواع من *Streptomyces*

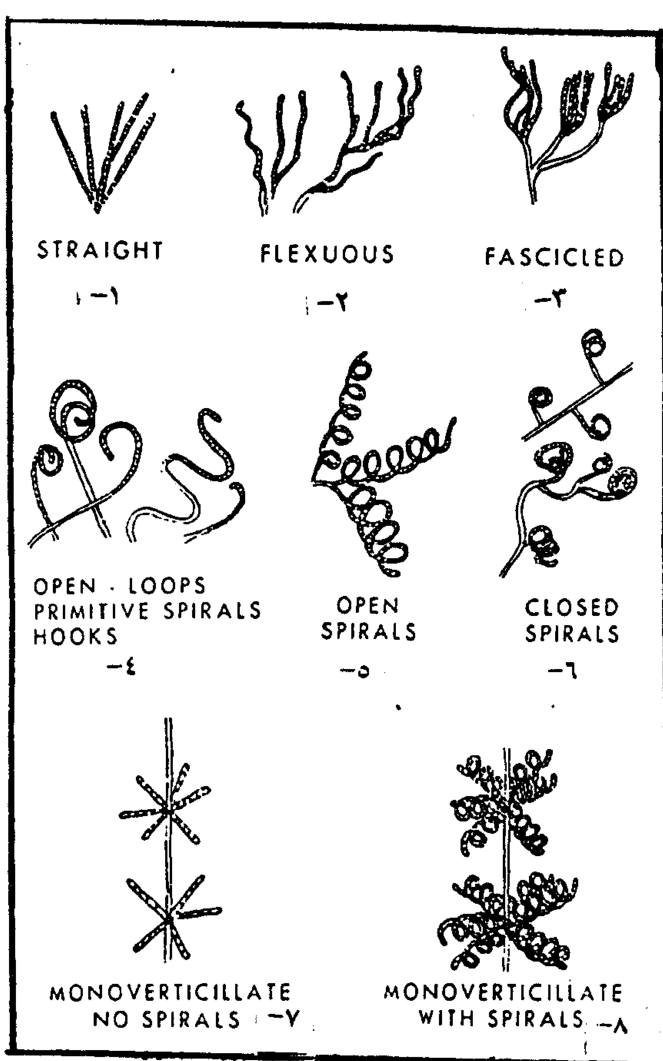
A - *S. alivaceus*
B - *S. purpurascens*
C - *S. diastatochromogenes*
D - *S. albogriseolus*

ب - شكل سلسلة الجراثيم ، وعدد الجراثيم

قد تكون سلسلة الجراثيم مستقيمة ، أو متموجة ، أو لولبية ، كما أن عدد الجراثيم يختلف في السلسلة بإختلاف نوع الاستربتومايسيس [شكلى ٧ (٢) - ٢٧ و ٢٧ أ] .



شكل ٧ (٢) - ٢٧ :
Streptomyces viridochromogenes
الميسليوم هوائى ، يحمل سلاسل حلزونية لجراثيم كونيدية



شكل ٧ (٢) - ٢٧ أ :
شكل توضيحى لنظام ترتيب سلاسل الجراثيم الكونيدية ، في أنواع من جنس استربتومايسيس
١- سلاسل مستقيمة
٢- سلاسل متعرجة
٣- سلاسل في حزم
٤- سلاسل حلزونية خطافية
٥- سلاسل حلزونية مفتوحة
٦- سلاسل حلزونية مقفولة
٧- سلاسل مستقيمة مكونة لسوار حول المحور
٨- سلاسل حلزونية مكونة لسوار حول المحور

جـ - لون الميسليوم الهوائى ، ولون الميسليوم التحتى ، ولون البيئة نتيجة النمو .

د - انتاج صبغة الميلانين

فمن المعروف أن بعض أنواع الاستربتومايسيس قادرة على انتاج انزيم Tyrosinase، الـذى يحول الحامض الأمينى تيروزين الى 1,3 hydroxy indol ، وهـذا يتأكسـد الـى صبغـة الميلانين الذائبة بقلة فى الماء ، وذات اللون البنى الغامق أو الأسود .

هـ -الخواص الفسيولوجية ، مثل استخدام مصادر الكربون المختلفة ، والأحماض العضويـة المختلفة ، وإختزال النترات ، وتحلل اليوريا ... الخ .

G - البكتريا العصوية السالبة لصبغة جرام "هوائية واختيارية للهواء"

Gram negative, Rods, Aerobes and Facultatives

[جدول ٧(٢)-٩]

تضم هذه المجموعة ، عددا كبيرا من الأجناس البكتيرية متعددة الصفات ، وعادة ماتقسم الى فصائل

* مثل فصيلة Pseudomonadaceae التى تضم أجناس

Pseudomonas, Xanthomonas and *Zoogloea*

* وفصيلة Enterobacteriaceae التى تضم أجناس

Escherichia, Enterobacter, Erwinia, Proteus, Salmonella, Serratia, Shigella and *Yersinia*

وخلايا المجموعة (G) ، عصوية مستقيمة أو منحنية قليلا ، وقليل منها كروى ، (ولكنها ليست حلزونية) ، وهى سالبة لصبغة جرام ، والحركة بواسطة أسواط طرفية أو جانبية ، ومنها الهوائى مثل *Pseudomonas* ذو الأيض التنفسى ، ومنها الاختيارى مثل *Escherichia* ذو الأيض التنفسى والتخميرى .

G1 - من الفصائل الهوائية الهامة

١- Family Acetobacteriaceae

خلايا هذه الفصيلة عصوية ، تؤكسد الإيثانول إلى حامض أستيك ، والأجناس التابعة مترممة ، وتتواجد فى الوسط السكرى والكحولى والحامضى ، مثل الأزهار ، والفواكه وعصائر الفواكه والمشروبات الكحولية .

من الأجناس التابعة لهذه الفصيلة

أ - *Acetobacter*

ذو أسواط محيطية ، وتستخدم أنواعه مثل *A. aceti* فى الانتاج التخميرى لحامض الخليك ، كما أن النوع *A. xylinum* يتميز بإفرازه لمواد سليلوزية تتجمع حول الخلية .

ب - *Gluconobacter* (وكان يسمى سابقا *Acetomonas*)

ذو أسواط طرفية ، وتستخدم أنواعه مثل *G. oxydans* فى الانتاج التخميرى لبعض المواد مثل Dihydroxyacetone and Sorbose .

ويفرق بين جنسى الاسـيتوباكتر والجلوكونوبـاكتر بيوكيميائيـاً بتحلـل المـواد ، ومورفولوجياً بنظام وجود الأسواط .

جدول ٧ (٢)-٩ : أجناس البكتريا العصوية السالبة لصبغة جرام ، هوائية ، وإختيارية للـهواء . (Groups 4 & 5, Bergey's 1994)
وأنظر جدول [٧ (٢) - ١٠]

اختيارية للهواء (G4 & G5)	هوائية مثبتة أو غير مثبتة للنتروجين G2	هوائيـة (G1 & G3)
Actinobacillus	مثبتة للنتروجين الهواء الجوى	*Acetobacter*
Aeromonas		*Agromonas*
		Alcaligenes
	تثبيت لاتكافلى	
Beneckea		*Alteromonas*
	Azomonas	
	Azotobacter	
Chromobacterium		*Bordetella*
Citrobacter		*Brucella*
	Beijerinckia	
	Derxia	
Edwardsiella		*Erythrobacter*
Enterobacter		
Erwinia		*Flavobacterium*
	تثبيت تكافلى	
Escherichia		*Francisella*
	Azorhizobium	
Gardnerella	*Bradyrhizobium*	*Gluconobacter*
	Rhizobium	
Haemophilus	*Sinorhizobium*	*Legionella*
Hafnia		
Klebsiella		
	غير مثبتة للنتروجين الهواء الجوى	
Morganella	*Agrobacterium*	
Pasteurella		Methylobacteria group
Photobacterium		
Plesiomonas		*Phyllobacterium*
Proteus		*Pseudomonas*
Rahnella		*Ralstonia*
Salmonella		*Thermomicrobium*
Serratia		*Thermus*
Shigella		
Streptobacillus		*Weeksella*
Yersina		*Xanthobacter*
		Xanthomonas
Zymomonas		
		Zoogloea

٢- Family Pseudomonadaceae

خلايا هذه الفصيلة عصوية مستقيمة أو منحنية قليلا ، الحركة بواسطة أسواط طرفية ، وهى موجبة لاختبار الكاتاليز ، وعادة موجبة لإختبار الأكسيديز .

من أجناس هذه الفصيلة

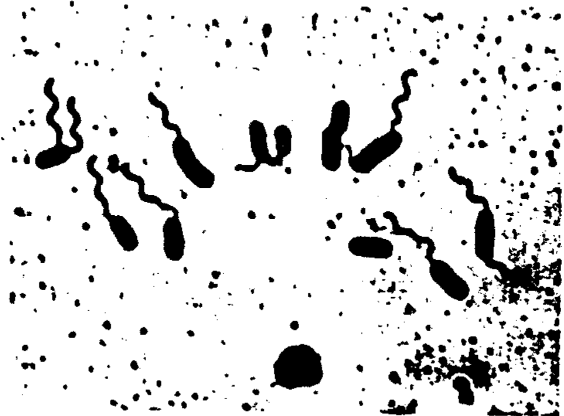
Pseudomonas [شكل ٧ (٢)-٢٨]

أنواع هذا الجنس واسعة الانتشار فى الأراضى والمياه والهواء ، وهى هوائية وإن كان بعضها يستطيع النمو لاهوائيا باستخدام النترات كمستقبل للإلكترونات ، كما أن منها المفرز لصبغات قابلة للذوبان .

وأنواع هذا الجنس بسيطة فى احتياجاتها الغذائية ، وتتميز بقدرتها العالية ، عن كثير من البكتريا الأخرى ، فى استخدام مصادر عديدة عضوية للتغذية منها المركبات الحلقية والعطرية ، وتعتبر كانسة للفضلات Scavengers فى الأراضى والمياه .

ويميز بين أنواع السيدوموناس بخواصها المزرعية ، والبيوكيميائية كاستخدام بعض المركبات كمصادر للكربون .

من أنواع هذا الجنس ماهو ممرض للنبات والحيوان والانسان ، ومنها ماهو مفسد للأغذية واللحوم .



شكل ٧ (٢)- ٢٨ :

خلايا *Pseudomonas*
لاحظ الخلايا طرفية الأسواط .
(٢٠٠٠x)

من الأنواع التابعة لجنس *Pseudomonas*

P. aeruginosa (سابقا *P. pyocyanea*)

يفرز هذا النوع صبغة البيوسيانين Pyocyanin ، وهى صبغة زرقاء اللون تذوب فى الماء، كما يفرز صبغة البيوفردين Pyoverdin وهى صبغة فلوروسنتية خضراء مصفره تذوب فى الماء .

هذه البكتريا من أحياء التربة وهى مترممة ، ولكنها إنتهازيه إذ تسبب أمراضا للانسان منها التهاب الجهاز البولى والأذن الوسطى ، وقد توجد بالجروح وتفرز بها صديدا.

P. fluorescens

تفرز صبغاتا فلوروسنتية ، وهى بكتريا مترممة ، توجد بالأراضى والمياه .

P. mallei

ممرضة للحيوانات مثل الخيول والقردة ، وتسبب لها مرض السَّقاوة Glanders ، وهو مرض مسيل للمخاط ، وينتقل الميكروب للإنسان .

P. maltophila

لاتفرز هذه البكتريا صبغات فلوروسنتية ، وهى توجد فى العينات الإكلينيكية .

P. solanacearum **(يسمى الآن *Ralstonia solanacearum*)**

ممرض للنباتات ، يسبب العفن البنى فى البطاطس وذبول نبات الدخان .

P. syringae

ممرض للنباتات ويسبب لها أمراضا منها أمراض التبقع وتخطيط الأوراق والنكرزه .

ومن الأجناس لأخرى التابعة لفصيلة السيدوموناديسيا

أ - ***Xanthomonas***

يُكوّن هذا الجنس صبغاتا صفراء مميزة تسمى Xanthomonadins ، وهى عبارة عن مركبات Polyenes محتوية على بروم .

وكل أنواع هذا الجنس ممرضة للنبات ، تسبب أمراضا منها التبقع والتخطيط والتقرحات والذبول والعفن .

تفرز هذه البكتريا سكريات معقدة لزجة تسمى صمغ الزانثان Xanthan gum ، تستعمل كمثبتات فى الأغذية (كالحلويات) ، وفى الصناعة (كحبر الطباعة ومواد التجميل) .

من أنواع هذا الجنس الهامة *X. campestris* .

ب - ***Zoogloea***

تسمى بكتريا هذا الجنس أيضا بالصموغ الحية Living glue ، وهى بكتريا معقدة التغذية، وتتميز الخلايا بأنها توجد مطمورة فى مادة جيلاتينية صمغية ، مكونة كتلة لزجة متفرعة على شكل الأصابع Finger like [شكل ٧ (٢)- ٢٩] .

من أنواع هذ الجنس ، النوع *Z. ramigera* .

الأنواع المترممة من هذا الجنس مثل *Z. ramigera* ، توجد عادة مُغلَّفة للحصى الموجود بالمرشحات البطيئة الإنسياب Trickling-filter beds بأحواض معالجة مياه المجارى ، حيث تؤكسد البكتريا المواد العضوية الذائبة الموجودة بهذه المياه .



شكل ٧ (٢)- ٢٩ : خلايا *Zoogloea ramigera* ، لاحظ أن الخلايا مطمورة فى مادة جيلاتينية وتظهر الكتلة اللزجة متفرعة على شكل الأصابع .
البار = ٥٠ ميكرومتر

٣- Family Legionellaceae

خلايا هذه الفصيلة عصوية متحركة بأسواط طرفية أو جانبية ، تحتاج فى تغذيتها لوجود السيستئين Cysteine وأملاح حديد ، مع وجود فحم ليزيل الأثر السام لـ H_2O_2 المتكون بالبيئة .

يتبع هذه الفصيلة جنس واحد ، هو *Legionella* .

توجد أنواعه بالمياه السطحية ، وبمياه الجداول والبحيرات الملوثة .

وهى بكتريا نهازه للفرص تسبب أمراض الليجيونيلا Legionellosis مثل مرض الشعب الرئوية Bronchopneumonia ، الذى يسببه النوع *L. pneumophila* .

٤- بكتريا الميثايل Methylobacteria (Family Methylococcaceae)

تضم هذه المجموعة أجناسا متباينة ، منها الكروى والواوى والحلزونى ، ولكنها جميعا تمتاز بقدرتها على استخدام غاز الميثان ، أو مجموعة الميثايل (كالميثانول) ، كمصدر وحيد للكربون والطاقة تحت الظروف الهوائية ، أو فى وجود كمية قليلة من الأكسجين ، حيث تؤكسد مجموعة CH_3 الى CO_2 وماء .

هذه البكتريا مترممة غير ضارة ، توجد بالأراضى والمياه ، حيث تخلص الوسط من غاز الميثان الذى يتكون لاهوائيا .

من الأجناس التابعة

Methylobacterium, Methylococcus, Methylomonas, Methylosinus

ويتميز جنس *Methylosinus* بأن خلاياه تكون جراثيم خارجية Exospores ، وهى جراثيم تتكون بالتبرعم خارج الخلية ، وتتميز بمقاومتها النسبية للجفاف والحرارة المرتفعة ، وبعدم إحتوائها على حامض Dipicolinic acid الموجود بالجراثيم الداخلية للبكتريا .

من الأنواع التابعة لهذه الأجناس

Methylobacter extorquens, Methylococcus capsulatus, Methylomonas methanica, Methylosinus trichosporium

G2 – فصائل هوائية مثبتة (أو غير مثبتة) لنتروجين الهواء الجوى * [جدول ٧ (٢)- ٩] من هذه الفصائل

١ – Family Azotobacteriaceae

الخلايا عصوية أو بيضاوية أو كروية ، منها المتحرك ، وغير المتحرك ، ومنها مايكون صبغاتاً بنية اللون ، وهى بكتريا هوائية مترممة وتوجد بالأراضى ، وقادرة على تثبيت نتروجين الهواء الجوى لاتكافليا تحت الظروف الهوائية . ويساعد معدل التنفس العالى بهذه الخلايا ، على حماية انزيم النتروجينيز المسئول عن تثبيت النتروجين ، من التأثير المثبط الذى قد يحدث له من الأكسجين الجوى .

من الأجناس التابعة *Azomonas, Azotobacter, Beijerinckia* and *Derxia* ،
وتكون خلايا جنس الأزوتوباكتر حويصلات Cysts قادرة على مقاومة الجفاف ، كما أن الدركسيا تستطيع أن تنمو أوتوتروفيا مستخدمة H_2 كمصدر للطاقة .
من الأنواع التابعة لهذه الأجناس

Azomonas agilis, Azotobacter chroococcum, Azotobacter vinelandii, Beijerinckia indica, B. lacticogenes, Derxia gummosa.

٢- Family Rhizobiaceae

الخلايا عصوية تثير الخلايا النباتية عندما تصيبها ، مما يسبب حدوث تضخم لبعض أجزاء النبات ، مثل تكون عقد جذرية ، عقد ورقية ، عقد ساقية ، أو أورام بأجزاء مختلفة .

من أجناس هذه الفصيلة

Agrobacterium, Azorhizobium, Bradyrhizobium, Rhizobium, and *Sinorhizobium*

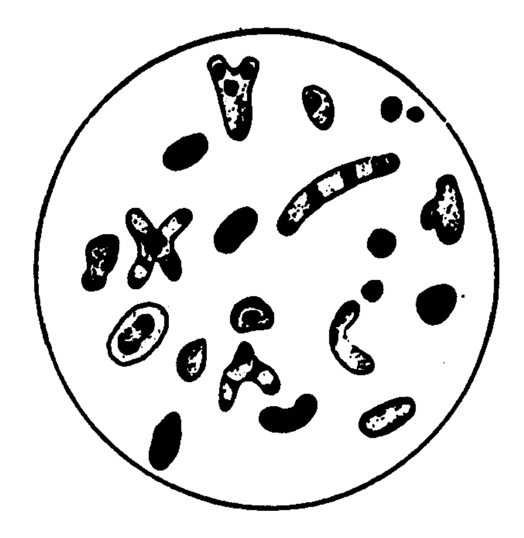
أ – *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*

بكتريا هذه الأجناس قادرة على تثبيت نتروجين الهواء الجوى تكافليا ، فى عقد بجذور النباتات البقولية . والأنواع البكتيرية متخصصة بالنسبة للنبات البقولى التى تتكافل معه وتثبت به النتروجين ، وتسمى أنواعا حيوية .Biovarieties, bv .
ومثلها بكتريا *R. leguminosarum* bv. *viceae* ، التى تحدث عقدا بكتيرية مثبتة للنتروجين بنبات الفول البلدى فقط ، ومن أمثلتها أيضا النوع *B. japonicum* المثبتة للنتروجين فى عقد بجذور نبات فول الصويا .

ويتم تثبيت النتروجين الجوى بداخل العقدة الجذرية للنبات ، عندما تكون بكتريا الرايزوبيا فى طور البكترويد Bacteroids [شكل ٧ (٢) – ٣٠] ، وهو الطور البكتيرى الذى يحتوى على إنزيم النتروجينيز ، كما تكون العقدة الجذرية فى هذا الطور ، محتوية على هيموجلوبين بقولى Leghemoglobin ، وهى مادة تحمى إنزيم النتروجينيز من التأثير الضار لأكسجين الهواء الجوى .

---

* أنظر تثبيت النتروجين الجوى ، بالفصل السابع من الباب العاشر .



شكل ٧ (٢)-٣٠: رسم يبين خلايا بكتريا الرايزوبيا فى طور البكترويد ، حيث تأخذ شكل حروف TLYXV .

كما تظهر الخلايا مخططة ، لوجود مناطق متباينة الصبغ لاحتوائها على حبيبات ميتا كروماتينية (×١٥٠٠) .

وتتميز الرايزوبيا مزرعيا ، بأنها سريعة النمو على بيئة أجار المانيتول ، عن البرادى رايزوبيا البطيئة النمو على نفس البيئة .

من الانواع التابعة لجنس برادى رايزوبيام : *B japonicum, B. lupini*

من الأنواع التابعة لجنس رايزوبيام : *R leguminosarum, R. meliloti, R. trifolii*

ب - *Azorhizobium*

بكتريا سريعة النمو ، مثبتة لنتروجين الهواء الجوى تكافليا فى عقد بسوق النباتات البقولية ، ومن أمثلتها *A. caulinodans* ، المثبتة للنتروجين فى عقد بسوق نبات السيسبانيا .

جـ - *Sinorhizobium*

بكتريا مثبتة لنتروجين الهواء الجوى تكافليا فى عقد بجذور نبات فول الصويا ، وهى من النوع سريع النمو ، من أنواعها *S. fredii & S. xinjiangense* .

د - *Agrobacterium*

بكتريا هذا الجنس غير مثبتة لنتروجين الهواء الجوى ، متحركة بأسواط محيطية ، محللة للأجار والبروتينات ، وهى ممرضة للنبات .

ومن الأنواع التابعة *A. tumefaciens* ، الذى يصيب الكثير من النباتات ، ويدخل بالنبات عن طريق الجروح ، ويسبب بالجذور والسوق والأوراق نمواتا شاذة وأوراما ، تسمى بسرطان النبات Plant cancer، أو بمرض التدرن التاجى Crown gall disease ، وتسبب هذه الأورام توقف تدفق سريان العصارة النباتية بين أجزاء النبات، وموتها .

تتميز السلالات البكتيرية الممرضة من النوع *A. tumefaciens* باحتوائها على بلازميد Ti، (Turnover-inducing plasmid) ، الذى يتكامل مع نواة خلية النبات المصاب ، مما يحث على تكوين النموات الشاذة .

G3 - أجناس هوائية لاتتبع فصائل معينة

يبين جدول [٧ (٢) - ١٠]بعض الأجناس الهوائية العصوية السالبة لصبغة جرام ، ولاتتبع هذه الأجناس فصائل معينة بالمجموعة

جدول ٧ (٢) - ١٠ : أجناس عصوية سالبة لصبغة جرام هوائية ، لاتتبع فصائل معينة (Group 4, Bergey's, 1994)

اسم الجنس والانواع	الشكل	الأسواط	المميزات الرئيسية
Alcaligenes *A. eutrophus* *A. faecalis* *A. viscolactis*	عصويات قصيرة جدا	محيطية	• تكوّن مستعمرات غير ملونة • موجبة لإختبار الأكسيديز • توجد بالأراضى والمياه • منها ماينمو أوتوتروفيا مستخدما H_2 كمصدر للطاقة • ومنها الإنتهازى الذى يسبب أمراضا للإنسان
Alteromonas *A. haloplanktis*	عصوية مستقيمة أو منحنية	قطبية	• تتطلب مياه بحرية للنمو • موجبة لاختبار الأكسيديز • بكتريا غير ضارة ، توجد بالبحار
Bordetella *B. pertussis*	عصويات قصيرة جدا	-	• متطفلة وممرضة لكثير من الثدييات • *B. pertussis* يسبب السعال الديكى بالانسان
Brucella *B. abortus* *B. melitensis* *B. suis*	عصويات قصيرة جدا	-	• متطفلة وممرضة للحيوان والانسان حيث تسبب أمراض البروسيلا ، كحمى مالطه
Flavobacterium *F. meningosepticum*	عصويات	-	• تكون مستعمراتا صفراء اللون • موجبة لاختبار الأكسيديز • كثيرة الانتشار بالطبيعة والمستشفيات • مترممة ، ومنها الممرض مثل *F. meningosepticum* الذى يسبب مرض الالتهاب السحائى بالأطفال حديثى الولادة
Francisella *F. tularensis*	عصويات قصيرة جدا	-	النوع الأساسى هو *F. tularensis* ، وهو متطفل بالحيوانات البرية ، ويسبب التولاريميا * بالانسان
Thermomicrobium & *Thermus* *Thermus aquaticus*	عصويات	-	• محبة للحرارة المرتفعة إجبارا • درجة حرارة نموها المثلى ٧٠-٧٥°م . • توجد بمياه الينابيع الحارة
Xanthobacter *X. autotrophicus*	عصويات	-	• تكون مستعمراتا صفراء اللون • الخلايا متباينة بالنسبة للصبغ بجرام • توجد بالأراضى ، ومنها مايثبت نتروجين الهواء الجوى • قادرة على النمو أوتوتروفيا مع استخدام H_2 كمصدر للطاقة

* تولاريميا Tularemia : وتسمى أيضا بحمى الأرانب Rabbit fever
ينتقل الميكروب للانسان عن طريق القوارض ، ويسبب له حمى تستمر عدة أسابيع ، وتعالج بالمضادات الحيوية .
ويعود اسم تولاريميا الى مستنقعات Tulare فى كاليفورنيا ، التى لوحظ فيها المرض لأول مره .

G4- فصائل اختيارية للهواء

١- Family Enterobacteriaceae

تحتوى هذه الفصيلة على مجموعة كبيرة من الأجناس [جدول ٧ (٢) - ٩] ، ويميز بينها مورفولوجيا وبيوكيميائيا وبتخميرها للسكريات .
ويوضح جدولى [٧ (٢) ١١ و ١٢] أهم المميزات البيوكيميائية ، والخواص المفرقة بين بعض أجناس هذه الفصيلة .
تمتاز خلايا هذه الفصيلة بأنها عصوية (حوالى ٠,٣ × ١,٥ ميكرومتر) ، سالبة لصبغة جرام ، اختيارية للهواء ، بسيطة التغذية فى أغلبها ، والحركة إن وجدت تكون بأسواط جانبية ، وهى سالبة لإختبار الأكسيديز ، وتحتوى الخلايا على إنتجينات مميزة لها ، تسمى بالأنتجينات العامة للبكتريا المعوية ، Enterobacterial common antigens, CA ، وهى توجد مرتبطة بالانتجينات الجسدية ، ولكن تختلف عنها فى بعض الصفات .
ترتبط معظم أجناس هذه الفصيلة بالنباتات والحيوانات ، ومنها مايعيش بأمعاء الانسان والحيوان ، كما أن منها مايوجد بالأراضى والمياه ، ومنها المترمم والممرض .

جدول (٧ (٢)-١١ : أهم المميزات * البيوكيميائية لأجناس فصيلة Enterobacteriaceae (Group 5, Bergey's, 1994)

الجنس	غاز من الجلوكوز	حامض من اللاكتوز	انتاج يوريز	انتاج H_2S
Escherichia	+	+	-	-
Enterobacter	+	+	d	-
Citrobacter	+	+	-	+
Hafnia	+	+	-	-
Klebsiella	+	+	-	-
Proteus	+	-	+	d
Salmonella	+	-	-	+
Serratia	d	d	-	-
Shigella	-	-	-	-
Yersinia	-	d	d	-

* ١- كل الأجناس سالبة لانتاج Deoxyribonuclease عدا *Serratia* .
٢- كل الأجناس سالبة لانتاج Phenyl alanine deaminase عدا *Proteus* .
٣- d : موجبة أو سالبة حسب النوع
٤- الكلبسيلا تكون كابسول ، ومنها النوع *K. pneumoniae* ، ممرض للإنسان ، وهو من مسببات الالتهاب الرئوى

جدول (٧ (٢)-١٢ : الخواص التفريقية بين أجناس فصيلة *Enterobacteriaceae* (Group 5, Bergey's, 1994) .

الجنس	الحركة	اختبارات الإيمفيك EMViC tests انتاج الاندول Indole (I)	اختبار أحمر الميثايل Methyl red (M)	اختبار فوجز بروسكاور Voges-Proskauer (V)	استخدام السترات Citrate (C)
Escherichia	+	+	+	-	-
Enterobacter	+	-	-	+	+
Citrobacter	+	-	+	-	+
Hafnia	+	-	-	+	+
Klebsiella	-	-	-	+	+
Proteus	+	d*	+	d	d
Salmonella	+	-	+	-	+
Serratia	+	-	-	d	+
Shigella	-	d	+	-	-
Yersinia	-	d	...	-	...

* d : موجبة أو سالبة للأختبار حسب النوع

من الأجناس الهامة التابعة لهذه الفصيلة **

أ - *Escherichia*

النوع الرئيسى التابع لهذا الجنس ، هو *E. coli* (بكتريا القولـــون) [شـــكل ٧ (٢)-٣١] ، وهو يوجد بقولون الانسان وحيوانات ذوات الدم الحار ، حيث يشكل جزءا مـــن الفلـــورا الطبيعية الموجودة بالقولون .

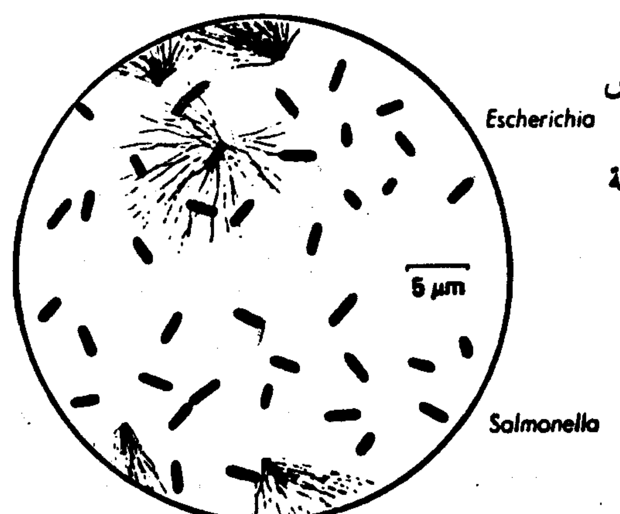
بكتريا *E. coli* مترممة ، ولكن بعض سلالاتها ممرضة ، مثل سلالات :

E. coli O26 : K60 : H 11 & *E. coli* 055 : K59: H 6

وتشير الأرقام والحروف التى تلى اسم البكتريا ، إلى أنتجينـــات البكتريـــا الجســـدية O ، وأنتجينات جسدية سطحية K ، وأنتجينات الأسواط H ، التى تميز هذه السلالات .

وتسبب هذه السلالات ، اضطراباتا معوية ، والتهاباتا بالجـــهاز البولـــى ، ويفـــرق بيـــن سلالات بكتريا القولون بخواصها الأنتجينية الجسدية O-antigens .

** راجع تخمرات ذات طابع خاص (التخمر الفورميكى ، التخمر المختلط) ، بالباب الحادى عشر .



شكل ٧ (٢)-٣١ : رسم خلايا بكتيرية لأجناس *Escherichia & Salmonella*
لاحظ الأسواط المحيطية ، وهى غير مرئية فى الصبغ العادى .

ب - ***Enterobacter* (سابقا *Aerobacter*)**

تتميز أنواع هذا الجنس بأنها تنمو جيدا على درجة حرارة ٣٥°م ، كما أنها تنتج الكثير من الغازات من عمليات التخمر مقارنة ببكتريا *E. coli* .

توجد الإنتروباكتر أساسا بالتربة والمياه وعلى الخضر والنباتات ، كما أن منها مايوجد بالمخلفات البرازية ومنها النهاز للفرص ، ويسبب المرض للانسان .

ومن الأنواع الهامة التابعة *E. aerogenes* .

يميز بين *E. coli* وبين *E. aerogenes* باختبارات مجموعة الإيمفيك IMViC tests الموضحة بجدول [٧(٢)-١٢] .

جـ - ***Erwinia***

أنواع هذا الجنس مفرزة لانزيم البكتينيز ، وهى توجد بالنباتات ، وتسبب لها أمراضا متعددة منها العفن الطرى Soft rot ، اللفحة Blight ، التقرحات Cankers ، تبقع الأوراق Leaf spots وغيرها .

من الأنواع الهامة التابعة *E. carotovora* .

د - ***Proteus*** .

أنواع هذا الجنس نشطة فى حركتها ، وتنتشر فوق سطح بيئة الأجار مكونة مايعرف بالمستعمرات المنتشرة أو المتجولة Swarming ، وهى توجد أساسا بأمعاء الانسان والحيوان وفى الأراضى والمياه الملوثة ، ومنها أنواع ممرضة للإنسان .

من أنواع جنس البروتياس الهامة

P. mirabilis : المعدى للجهاز البولى

P. vulgaris : غير ممرض ، ويكون مستعمراتا منتشرة على سطح البيئة الصلبة

هـ - *Salmonella* [شكل ٧ (٢) - ٣١]

أنواع هذا الجنس ممرضة للانسان ، فمنها

S. typhi الذى يسبب حمى التيفود

S. paratyphi الذى يسبب حمى الباراتيفويد

S. enteritidis و *S. typhimurium* المسببة للتسمم الغذائى .

كما أن من السالمونيلا ماهو ممرض للحيوان والطيور .

ويميز بين سلالات السالمونيلا سيرولوجيا بخواصها الأنتجينية السوطية والجسدية ، H & O-antigens .

و - *Serratia*

توجد هذه البكتريا بالأراضى والمياه وعلى أسطح النباتات ، وأغلبها غير ضار ، غير أن منها أنواعا مفسدة للأغذية ، ومنها ماهو إنتهازى ويسبب أمراضا للإنسان ، خاصة للمرضى بالمستشفيات .

النوع *S. marcescens* يكون مستعمراتا حمراء اللون على سطح البيئة الصلبة .

ز - *Shigella*

أنواع هذا الجنس غير متحركة ، سالبة لاختبار فوجز وبروسكاور* ، وهى ممرضة للانسان وتسبب له مرض الدوسنتاريا الباسيلية (الزحار) .

من أنواع هذا الجنس *Sh. dysenteriae, Sh. flexneri, Sh. sonnei*

ويميز بين السلالات بخواصها الأنتجينية الجسدية .

ح - *Yersinia* [شكل ٧ (٢) - ٣٢] (كان يسمى سابقا *Pasteurella*)

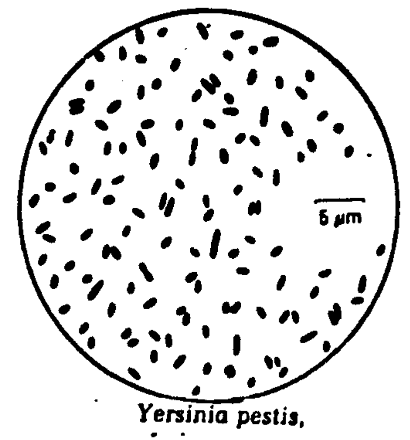
أنواع هذا الجنس غير متحركة ، وسالبة لاختبار فوجز وبروسكاور* ، وهى متطفلة ، ومنها الممرض .

من الانواع الهامة

Y. pestis المسبب لمرض الطاعون بالانسان ، وتقوم البراغيث بنقل البكتريا من القوارض الى الانسان .

Y. enterocolitica المسبب للإضطرابات المعوية بالأطفال

* أنظر اختبارات الايمفيك ، ص ٨٨٠ .



Yersinia pestis,

شكل (٧)(٢)-(٣٢) : رسم يبين *Yersinia pestis* مسبب مرض الطاعون .

٢- Family Pasteurellaceae

خلايا هذه الفصيلة عصوية قصيرة (حوالى (٠,٢ × ٠,٤ ميكرومتر) ، سالبة لصبغة جرام ، غير متحركة ، إختيارية للهواء ، ذات إحتياجات غذائية معقدة ، موجبة لإختبار الأكسيديز ، ولاتحتوى خلايا هذه الفصيلة على الانتجينات العامة للبكتريا المعرية ، الموجودة فى خلايا بكتريا فصيلة Enterobacteriaceae. وعادة ماتوجد أنواع هذه الفصيلة كمتطفلة بالفقاريات، ومنها الممرض .

من الأجناس الهامة التابعة لهذه الفصيلة

أ - *Actinobacillus*

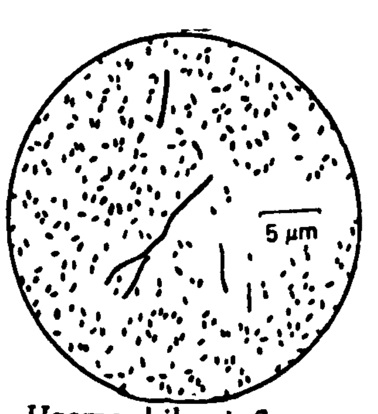
متطفلة على الطيور والثدييات ، ومنها الممرض للحيوان ، مثل

- *A. lignieresii* المسبب لأورام حبيبية *Granulomatous lessions* بالماشية والأغنام
- *A. suis* المسبب للالتهاب الرئوى والتلوث الدموى Septicimia بالخنازير .

ب - *Haemophilus* [شكل ٧ (٢)-٣٣]

ذات إحتياجات غذائية معقدة غير عادية ، فهى تحتاج فى نموها لعامل X factor, X، وهو هيم الدم ، و/أو عامل V ، V factor ، وهو قرين انزيم الناد NAD .

توجد أنواع هذا الجنس متطفلة على الأغشية المخاطية للإنسان والحيوان ، ومنها الممرض للإنسان ، مثل *H. influenzae* المسبب للالتهاب السحائى بالأطفال .



Haemophilus influenzae.

شكل (٧)(٢)-(٣٣) : رسم يبين خلايا *Haemophilus influenzae* .

جـ - *Pasteurella*

متطفلة على الأغشية المخاطية للجهاز التنفسى العلوى للطيور والثدييات (نادرا بالنسبة للانسان)

منها *P. multocida* المسبب لكوليرا الطيور والتلوث الدموى بالماشية .

G5- أجناس أخرى اختيارية للهواء لاتتبع فصائل معينة [جدول ۷ (۲)- ۹] .

١ - *Aeromonas*

عصويات متحركة توجد بالمياه ومياه المجارى والتربة ، وهى قادرة على تخمير الجلوكوز (وليس اللاكتوز) مع انتاج حامض وغاز .

منها الممرض للأسماك ، مثل *A. salmonicida* ، الممرض لسمك التروت (السلمون المُرقّط) Trout والسالمون العادى Salmon .

٢ - *Beneckea*

عصويات متحركة محبة للملوحة ، توجد بالمياه البحرية ، وهى ممرضة للحيوانات . **من أنواعها**

B. parahaemolytica وينتقل من الأسماك الى الانسان ، ويسبب للانسان إضطرابات معوية .

٣ - *Chromobacterium*

عصويات متحركة تكون صبغة الفيولاسين Violacein ، وهى من مشتقات الإندول ، وغير ذائبة بالماء ، وتظهر مستعمرات هذه البكتريا بنفسجية اللون على البيئات الصلبة بسبب صبغة الفيولاسين .
النوع *C. violaceum* يوجد بالأراضى والمياه ، وهو مترمم ، وأيضا نهاز للفرص مسببا المرض للإنسان والحيوان .

٤ - *Gardnerella*

عصويات غير متحركة ، متباينة للصبغ بجرام ،

منها *G. vaginalis* وهو من مسببات التهاب المهبل بالإناث .

٥ - *Photobacterium*

عصويات متحركة ، محبة للملوحة ، تعيش بالبحار وعلى سطح بعض الأسماك وفى جهازها الهضمى ، وبالمواد العضوية المتحللة ، وبعضها يعيش تكافليا مع أسماك قاع البحار .
تمتاز أنواع هذا الجنس بأنها تسبب إضاءة حيوية ، وتحدث الاضاءة فى وجود الأكسجين ، **ومن الأنواع التابعة** *Ph. phosphoreum* (أنظر ص ٨٨٥) .

٦ - *Streptobacillus*

عصويات متعددة الأشكال ، غير متحركة ، قد توجد الخلايا فى صورة بروتوبلاست عارى (أى بدون جدار) ، مما يجعل الخلايا تأخذ أشكال إل L-forms .

وتُكوّن الأستربتوباسلس مستعمراتا دقيقة بالبيئة الصلبة ، شكلها كالبيض المقلـى Fried-egg ، تشبه فى مظهرها مستعمرات المايكوبلازما .

ومن الأنواع التابعة ***S. moniliformis*** ، وهى متطفلة بالفئران ، ومن مسببات حمـى عضة الفأر للإنسان Rat-bite fever .

٧ - *Zymomonas*

عصويات متحركة بأسواط طرفية ، مترممة ومخمرة للسكريات ، وتُنتج من الجلوكـوز كميات كبيرة من الإيثانول ، توجد بالمخلفات النباتية المتخمرة وبالعسل ، ومنها المفسـد للبيرة وعصائر الفاكهة ،

من الأنواع التابعة ***Z. mobilis*** .

H- أجناس البكتريا العصوية السالبة لصبغة جرام اللاهوائية (غــير المختزلـة للكبريت) Gram negative, Rods, Anaerobes جدول [٧ (٢) - ١٣]

خلايا هذه المجموعة سالبة لصبغة جرام ، عصوية مستقيمة أو منحنية ، لاهوائية ، منـها المتحرك وغير المتحرك ، وكثير منها يفرز كمياتا محسوسة من الأحمـــاض العضويـة نتيجة للتخمر ، وهى لاتستخدم مركبات الكبريت كمستقبلة للإلكترونات ، وأغلبها متطفل .

من الأجناس التابعة لهذه المجموعة

Pelobacter
Ruminobacter
Thermobacteroides
Wolinella
Zymophilus
Bacteroides
Fibrobacter
Fusobacterium
Leptotrichia

ويوضح جدول [٧ (٢)-١٣] مميزات بعض الأجناس التابعة لهذه المجموعة .

جدول ٧ (٢)-١٣ : مميزات بعض الأجناس العصوية السالبة لصبغة جرام اللاهوائية غير المختزلة للكبريت (Group 6, Bergey's 1994).

الجنس	*Bacteroides* (B.)	*Fibrobacter* (Fib.)	*Fusobacterium* (Fus.)	*Leptotrichia* (L.)	*Wolinella* (W.)
الشكل المورفولوجي	- عصوى - الحركة إن وجدت تكون بأسواط محيطية	- عصوى - غير متحرك	- عصوى طويل ذو أطراف مدببة - مغزلي الشكل - غير متحرك	- عصوى خيطي - غير متحرك	- عصوى أو منحني قليلا - متحرك بسوط واحد طرفي
نواتج التخمر الأساسية	خليط من الأحماض، منها: الأستيك ، الفورميك، البروبيونيك ، البيوتريك ، اللاكتيك	أستيك ، سكسنيك	البيوتريك	لاكتيك	- يستخدم H_2 أو الفورميك كمانح للإلكترونات ، مع أكسدة الفورميك الى CO_2 - ويستخدم الفوماريك أو النترات كمستقبل للإلكترونات واختزال الفوماريك الى سكسنيك
التواجد	- بالقناة الهضمية وكرش المجترات والمخلفات البرازية - منه أنواع ممرضة	بالقناة الهضمية وبكرش المجترات	- بتجويف الفم والقناة الهضمية - منه أنواع ممرضة للإنسان	بتجويف الفم	بالأوساط اللاهوائية
أهم الأنواع	*B. fragilis* *B. ruminicola* *B. succinogenes*	*Fib. intestinalis* *Fib. succinogenes*	*Fus. fusiforme* *Fus. nucleatum*	*L. buccalis*	*W. succinogenes*

I - أجناس البكتريا اللاهوائية المختزلة للكبريت أو الكبريتات (عصوية ، كروية ، واوية)

Sulfur or sulfate-reducing anaerobic bacteria [جدول ٧ (٢)-١٤]

تشمل هذه المجموعة [جدول ٧ (٢)-١٤] ، الأجناس البكتيرية اللاهوائية القادرة على استخدام الكبريت أو مركباته غير العضوية (كالكبريتات والثيوكبريتات) كمستقبل للإلكترونات وانتاج H_2S .

من هذه الأجناس ماهو متحرك مثل *Desulfuromonas* ، ومنها غير المتحرك مثل *Desulfococcus* ، والزاحف Gliding مثل *Desulfonema* . ومنها السالب لصبغة جرام الواوى مثل *Desulfovibrio* ، ومنها الموجب لصبغة جرام المكون لجراثيم داخلية مثل *Desulfotomaculum* [أنظر جدول ٧ (٢) - ١٤] .

والبكتريا المختزلة للكبريت قادرة على استخدام المركبات ذات الوزن الجزيئي الصغير (مثل الأسيتات واللاكتات والإيثانول) ، والأحماض الدهنية ، والمركبات العطرية ، كمواد مانحة للالكترونات .

وتوجد البكتريا المختزلة للكبريت فى الأوساط اللاهوائية ، وفى قاع البرك والمستنقعات ، وفى طين المياه العذبة والبحرية ، وأمعاء الإنسان والحيوان ، ومنها المترمم والمتطفل .

جدول (٧)(٢)-١٤) : أجناس بكتيرية لاهوائية مختزلة للكبريت أو الكبريتات (عصوية ، كروية ، واوية)

. (Group 7, Bergey's 1994)

الجنس	الشكل المورفولوجي
Desulfobacterium	عصوى
Desulfococcus	كروى
Desulfomicrobium	عصوى
Desulfomonas	عصوى منحنى
Desulfonema	خيطي لزج
Desulfosarcina	كروى فى تجمعات
Desulfotomaculum	عصوى
Desulfovibrio	واوى
Desulfurella	عصوى
Desulfuromonas	عصوى
Thermodesulfobacterium	عصوى

J - البكتريا السالبة لصبغة جرام المنحنية ، واوية أو حلزونية

[جدول ٧(٢)-١٥] Gram-negatgive, Curved rods : Vibrios and Spirals

يتبع هذه المجموعة أجناس بكتيرية سالبة لصبغة جرام ، خلاياها منحنية ذات لفة واحدة (واوية Vibroid) ، أو ذات أكثر من لفة (حلزونية Spiral) ، متحركة بأسواط طرفية ، هوائية أو إختيارية أو لاهوائية ، تهاجم عددا قليلا من الكربوهيدرات ، وهى عادة موجبة لإختبار الأكسيديز .

وتوجد هذه البكتريا فى المياه العذبة أو المالحة ، وأغلبها مترمم غير ضار ، وقليل منها ممرض للإنسان والحيوان .

جدول (٧(٢)-١٥) : أجناس بكتيرية منحنية : واوية أو حلزونية سالبة لصبغة جرام

(Group 6, Bergey's , 1994) لاهوائية (J3)	(Groups 2, & 3, Bergey's 1994) هوائية (J1 & J2)
Acetivibrio *Acetogenium* *Anaerobiospirillum* *Anaerovibrio* *Butyrivibrio* *Desulfovibrio* *Selenemonas* *Succinimonas* *Succinivibrio*	*Aquaspirillum* *Azospirillum* *Bdellovibrio* *Campylobacter* (محب للأكسجين بكمية قليلة) *Cellvibrio* *Cyclobacterium* *Flectobacillus* *Halovibrio* *Helicobacter* *Microcyclus* *Oceanospirillum* *Runella* *Spirillum* *Spirosoma* *Sporospirillum* *Vampirovibrio* *Vibrio* (اختيارية للهواء)*

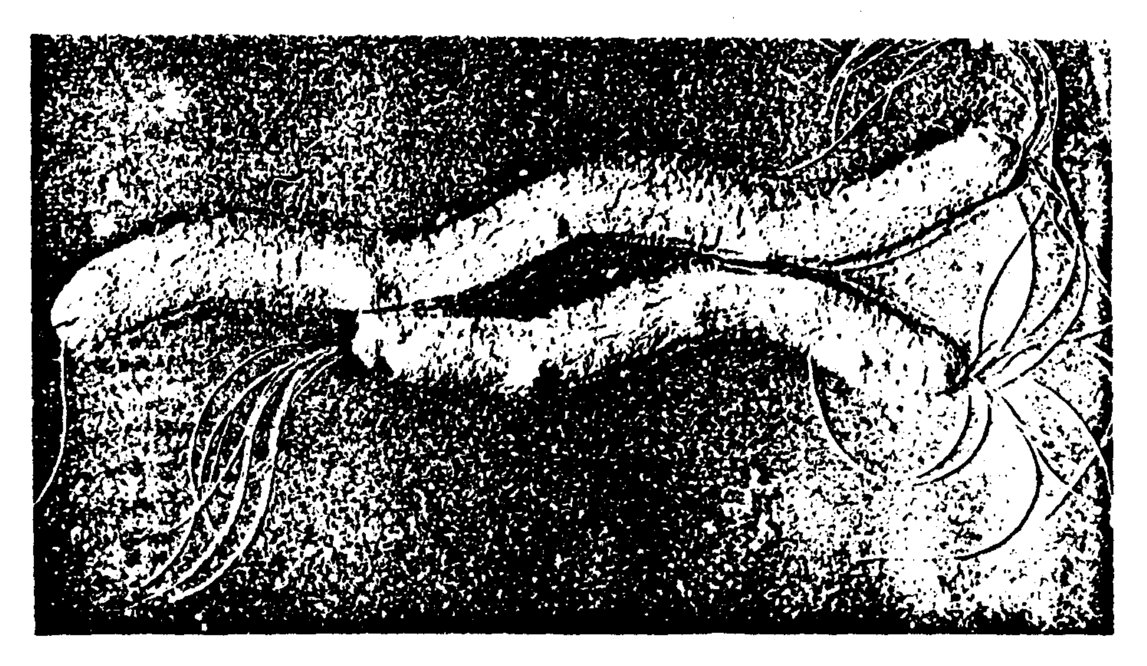
* تتبع الفيبريو المجموعة ٥ . فى مرجع برجى لعام ١٩٩٤ .

J1 - أجناس هوائية متحركة : (Group 2, Bergey's, 1994) [جدول ٧ (٢)-١٥]

أ - *Aquaspirillum*

حلزونية ، هوائية الى محبة للأكسجين بكمية قليلة ،ذات خصلة من الأسواط بطرفى الخلية Amphitrichous [شكل (٧(٢)-٣٤] . توجد فى المياه الساكنة وفى البحيرات ، ولاتنمو فى المياه البحرية ، أو المياه التى تزيد نسبة كلوريد الصوديوم بها عن ٣% ، وهى مترممة غير ضارة .

من أنواعها *A. serpens, (bengal) & A. itersonii* .



شكل ٧ (٢) - ٣٤ : *Aquaspirillum serpens* ، لاحظ وجود خصلة من الأسواط بكل طرف (×١٠,٠٠٠)

ب - *Azospirillum* [شكل ٧ (٢)-٣٥]

واوية ، هوائية ، متحركة بسوط طرفى ، وإذا نمت فى بيئة صلبة فإنها تتحرك بمجموعة من الأسواط الجانبية .

توجد متعايشة مع جذور الحشائش والنجيليات كالقمح والذرة وقصب السكر ، حيث تثبت نتروجين الهواء الجوى فى منطقة جذر النبات ، تحت ظروف كميات قليلة من الأكسجين .

النوع *A. lipoferum* يستطيع النمو أوتوتروفيا مستخدما H_2 كمصدر للطاقة .

ومن الأنواع الأخرى التابعة *A. brazilense* .



شكل (٧(٢)-٣٥ :
Azospirillum braziliense خلايا منحنية ومستقيمة من مزرعة عمرها ٤٨ ساعة ، عرض الخلية حوالى ١,٠ ميكرومتر .

جـ - *Bdellovibrio*

واوية ، هوائية ، دقيقة الحجم (٠,٣ × ٢,٠ ميكرومتر) ، متحركة بسوط طرفى ، تعيش فى المياه العذبة والبحرية ومياه المجارى ، كما توجد فى الأراضى .

أغلبها متطفل إجبارا على البكتريا السالبة لصبغة جرام ، مثل تلك التابعة لأجناس *Escherichia, Pseudomonas & Salmonella* ، حيث تلتصق البديللوفبريو بخلية العائل ، وتخترق الجدار الخلوى من ثقب ، وتنفذ إلى الغشاء البريبلا زمى وتسكن به ، أو تمتد إلى داخل خلية العائل ، ثم تنمو وتتكاثر وتتغذى على محتويات الخلية وتستهلك محتوياتها ، وبذلك تصبح خلية العائل فارغة كالشبح ، ثم تخرج خلايا البديللوفبريو النامية من خلية العائل ، لتغزو خلايا أخرى .

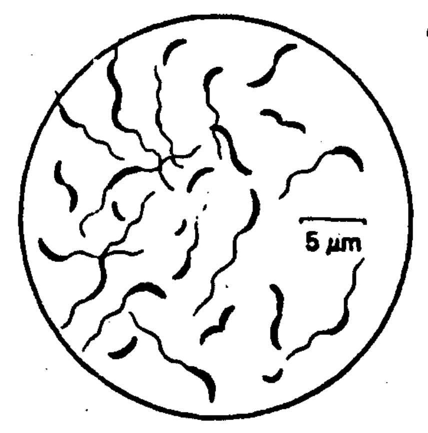
من أنواعها *B. bacteriovorus* .

د - *Campylobacter*

واوية ، محبة للأكسجين بكمية قليلة ، متحركة بسوط واحد فى طرف الخلية أو فى كلا الطرفين [شكل ٧(٢)-٣٦] . توجد بتجويف الفم وفى الجهاز الهضمى وفى الأعضاء التناسلية ، وهى متطفلة ، وبعض أنواعها ممرض مثل

C. jejuni من مسببات الإسهال فى الإنسان ،

و *C. fetus* subsp. *venerealis* المسبب لإجهاض الماشية .



شكل ٧ (٢) - ٣٦: رسم يبين خلايا *Campylobacter*

الأسواط غير مرئية فى الخلايا المصبوغة بالصبغ العادى

هـ - *Oceanospirillum*

حلزونية ، هوائية ، متحركة بخصلة من الأسواط بطرفى الخلية ، توجد فى البحار ، وهى لاتنمو فى وسط به أقل من ٣% ملح ، ويلزم لنموها وجود مياه بحرية فى بيئة النمو ، وهى مترممة غير ضارة .

و - *Spirillum*

حلزونية ، هوائية ، متحركة بخصلة من الأسواط فى الطرفين ، توجد بالمياه الراكدة ، والمياه الملوثة بالمجارى ، والمواد المتحللة ، وأغلبها مترمم غير ضار .

من أنواع السبايريلام

S. volutans

خلاياه كبيرة الحجم ، تحتوى على نسبة عالية من الفوليوتين ، ينمو فى وجود أكسجين بكميات قليلة ، ويوجد فى مخلفات الماشية .

S. minus

خلاياه دقيقة الحجم ، ومن مسببات حمى عضة الفأر للإنسان rat-bite fever ، حيث توجد البكتريا بدم الفأر ، وتنتقل للإنسان عن طريق العض .

ز - *Vampirovibrio*

يتشابه فى أغلب صفاته مع صفات جنس *Bdellovibrio* ، ولكن الفامبيروفبريو لايهاجم البكتريا ، ولكن يهاجم خلايا الطحالب حقيقية النواة .

ح - *Vibrio* [شكل ٧(٢)-٣٧]

واوية ، اختيارية للهواء ، حجمها حوالى ٠,٣ × ١,٣ ميكرومتر ، متحركة بسوط طرفى ، ويتميز السوط بأنه مغلف بغشاء ، وهى ذات إحتياجات غذائية بسيطة ، خليطة التخمر ، وتوجد فى الأوساط المائية العذبة والبحرية .

وأغلبها مترمم غير ضار ، وبعضها ممرض ، ويميز بين سلالات الفبريو الممرضة سيرولوجيا ، بواسطة الانتجينات الجسدية .

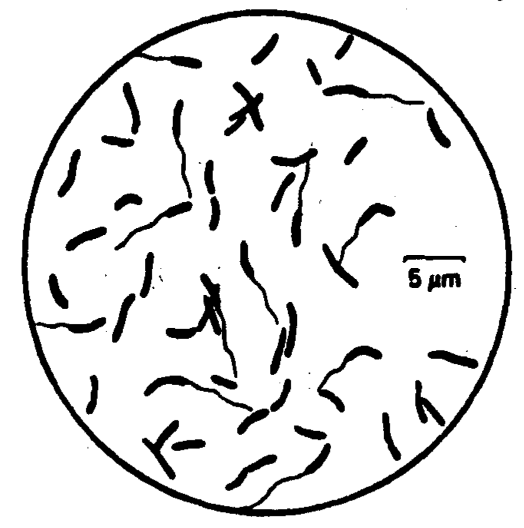
من أنواع الفبريو

V. anguillarum .... ممرض للأسماك البحرية وثعابين البحر

V. cholerae .... مسبب مرض الكوليرا بالانسان ، وتتكاثر هذه البكتريا بالأمعاء الدقيقة وتفرز توكسينات خارجية تسبب المرض ،

V. fischeri .... توجد متعايشة مع أسماك قاع البحار ، وتسبب إضاءة حيوية لونها أخضر مزرق

V. parahaemolyticus تسبب تسمماتا غذائية للإنسان ، تظهر كاضطرابات معوية .



شكل (٧(٢)-٣٧ : رسم يبين بكتريا *Vibrio* ، لاحظ الأسواط الطرفية التى لاتظهر بالخلايا المصبوغة بالصبغ العادى .

J2- أجناس هوائية غير متحركة (Group 3, Bergey's 1984)

[جدول ٧ (٢) - ١٥]

أجناس بكتيرية خلاياها حلزونية أو منحنية ، وقد يتصل طرفى الخلية المنحنية لتكون حلقة ، وهى سالبة لصبغة جرام ، غير مُتحركة ، هوائية ، موجبة لإختبار الأكسديز والكاتاليز .

وتوجد أساسا بالأراضى والمياه العذبة والبحرية ، وأغلبها مترمم غير ضار .

من الأجناس التابعة *Flectobacillus, Runella & Spirosoma* .

وخلايا هذه الأجناس لاتكون فجواتا غازية بداخل الخلايا ، وعلى البيئة الصلبة فإنها تكون مستعمراتا ملونة ، حمراء اللون فى حالة *Flectobacillus & Runella* ، وصفراء اللون فى حالة *Spirosoma* .

أما خلايا جنس *Microcyclus* (التابع لنفس المجموعة) فإنها تكون فجواتا غازية دائمة بداخل الخلايا ، وتعطى مستعمراتا غير ملونة .

J3 - أجناس لاهوائية : [أنظر جدول (٧(٢)-١٥]

خلايا هذه الأجناس سالبة لصبغة جرام ، منحنية ، لاهوائية ، أغلبها متحرك بسوط طرفى ، تحصل على طاقتها بالتخمر ، وتنتج كمياتا محسوسة من الأحماض العضوية نتيجة التخمر .

تعيش فى التجويف الفمى وبالجهاز الهضمى وكرش المجترات ، وفى طين قاع البحار ، وبالأوساط اللاهوائية الأخرى ، وأغلبها مترمم .

ويميز بين الأجناس بشكلها المورفولوجى ، وبأنواع الأحماض العضوية التى تنتجها نتيجة عملية التخمر .

ويوضح جدول [٧(٢)-١٦] مميزات بعض الأجناس التابعة لهذه المجموعة .

جدول (٧(٢)-١٦) : مميزات بعض الأجناس المنحنية السالبة لصبغة جرام اللاهوائية (Group 6, Bergey's 1994) .

الجنس وأهم الأنواع	الشكل المورفولوجي	نواتج التخمر الاساسية	التواجـــــد
Anaerobivrio	واوى متحرك بسوط طرفى	أستيك ، بروبيونيك	الأوساط اللاهوائية
Butyrivibrio *B. fibrisolvens*	واوى متحرك بسوط طرفى	أستيك ، بروبيونيك	كرش المجترات
Desulfovibrio *D. desulfuricans*	واوى متحرك بسوط طرفى	- أستيك من المواد العضوية - H_2S من اختزال الكبريت والكبريتات	- طين قاع البحار - الجهاز الهضمـــى للانسان والحيوان - كرش المجترات - أبار زيت البترول - وتسبـــب تـــآكل وتثقـــب حديــــــد المواسير
Selenomonas *S. ruminantium* *S. sputigena*	- هلالى الشكل - متحرك بخصلــه مــن الأسواط التى توجـــد بوســط الجـــانب المحدب للخلية	أستيك ، بروبيونيك وأحيانـــا لاكتيك	- تجويف الفم والاسنان . - كرش المجترات
Succinimonas *S. amylolytica*	كروى عصوى ، متحرك بسوط طرفى	أستيك ، سكسنيك	كرش المجترات
Succinivibrio *S. dextrinosolvens*	واوى متحرك بسوط طرفى	أستيك ، سكسنيك	كرش المجترات

K - مجموعة السبيروكيتا : The Spirochaetes

بكتريا حلزونية سالبة لصبغة جرام [جدول ٧ (٢) - ١٧]

يتبع هذه المجموعة أجناس بكتيرية تتميز خلاياها بأنها سالبة لصبغـــة جـــرام ، منحنيـــة حلزونية ، ذات جدر مرنة قادرة على الأنثناء ، هوائية أو لاهوائية ، والحركة لولبية بنوع خاص من الأسواط الداخلية بالخلايا Endoflagella ، تسمى أسواط بريبلازمية * ، كمـــا أن السبيروكيتا قادرة على الحركة الزاحفة على الأسطح الصلبة .

الخلايا فى أغلب الأجناس دقيقة الحجم ، قطرها حوالَى (٠,١ - ٠,٦ ميكرومتر) ، تمـــر من أغلب المرشحات البكتيرية ، وتُستعمل طرقًا مناسبة فى فحصها ، ويســـتخدم مجـــهر الحقل المظلم فى مشاهدتها .

توجد السبيروكيتا فى الأوساط المائية العذبة والبحرية ، كما يوجد بعضها بالحيوانـــات والرخويات ومفصليات الأرجل ، وهى مترممة أو متطفلة وبعضها ممرض .

ويتبع مجموعة السبيروكيتا فصيلتين ، هما

1. Family Spirochaetaceae

وتمتاز أجناس هذه الفصيلة بأنها لاهوائية أو محبة للأكسجين بكمية قليلة ، وبأنها قـــادرة على استخدام الكربوهيـــدرات أو الأحمـــاض الأمينيـــة كمصـــدر للكربـــون والطاقـــة ، **ومن الأجناس التابعة لهذه الفصيلة**

Borrelia, Brachyspira, Cristispira, Spirochaeta, Treponema

2. Family Leptospiraceae

وتمتاز أجناس هذه الفصيلة بأنها هوائية ، وتســـتخدم الأحمـــاض الدهنيـــة ذات السلســـلة الطويلة ، كمصدر للكربون والطاقة .

ومن الأجناس التابعة لهذه الفصيلة *Leptospira* ،

وجدول [٧ (٢)-١٧] يوضح مميزات أهم الأجناس التابعة لمجموعة السبيروكيتا

---

* أسواط بريبلازمية Periplasmic flagella ، أسواط توجد بداخل خلية السبيروكيتا ، وتقع فى الحيز السيريبلازمى للخلية ، أى بين غلاف الخلية الخارجى وبروتوبلازم الخلية .

وهذه الأسواط البريبلازميه لاتمتد الى خارج الخلية ، ولكنها تساعد الخليـــة علـــى الحركـــة الســـابحة بالســـوائل (أنظر ص ١٨٠) .

جدول ٧(٢)-١٧ : مميزات بعض الأجناس التابعة لمجموعة السبيروكيتا
(Group 1, Bergey's 1994)

الجنس وأهم الانواع	العلاقة بالأكسجين	التعايش	أهم المميزات
Borrelia *B. recurrentis*	محب للأكسجين بكمية قليلة	متطفل على القوارض وصغار الثدييات ، وعلى مفصليات الأرجل المتعلقة بتلك الحيوانات	ممرض ، ويسبب للانسان الحمي الراجعة (الناكسة) Relapsing fever ، وتنتقل البكتريا الى الانسان بواسطة القمل والقوارض
Cristispira *C. pectinis*	غير محدد	- متطفل غير ضار - يوجد بالمياه العذبة والبحرية وبالمحاريات	- من أجناس السبيروكيتا كبيرة الحجم . - ذات عدد كبير من الأيبوط البريبلازمية
Leptospira *L. biflexa* *L. canicola* *L. interrogans*	هوائي	- يوجد بالأوساط المائية والمياه الملوثة . - بعضها مثل *L. biflexa* غير ضار - وبعضها مثل *L. interrogans* متطفل على الحيوانات المستأنسة والبرية ، وهو ممرض ، ويسبب للانسان حمى يعقبها يرقان . - تنتقل البكتريا للانسان من الأغذية واللحوم الملوثة	- الخلايا خطافية الشكل - أصغر أجناس السبيروكيتا حجما
Spirochaeta *S. plicatilis*	اختيارى للهواء أو لاهوائى	- مترمم غير ضار - يوجد في الأوساط المائية ورواسبها ، وفى كرش المجترات	يستخدم الكربوهيدرات ، ولايستخدم الأحماض الأمينية ، كمصدر للكربون والطاقة
Treponema *T. hyodysenteriae* *T. pallidum*	لاهوائى ، أو محب للأكسجين بكمية قليلة	- يوجد بالتجويف الفمى والجهاز الهضمى والأعضاء التناسلية للانسان والحيوان . - بعض الأنواع ممرضة مثل *T. pallidum* التى تسبب مرض الزهرى للانسان	- دقيق الحجم - يستخدم الكربوهيدرات والأحماض الأمينية كمصدر للكربون والطاقة

L - بكتريا سالبة لصبغة جرام ذات تركيبات خاصة

Gram negative bacteria with special structures

[جدول ٧ (٢)-١٨]

تتميز هذه المجاميع البكتيرية [جدول ٧(٢)- ١٨] وشكل [٧ (٢) - ٣٨] بأن لها تركيبات خاصة أو نظام حركة خاص [جدول ٧ (٢) - ١٩] ، ولاتوجد هذه الخواص فى المجاميع البكتيرية الأخرى

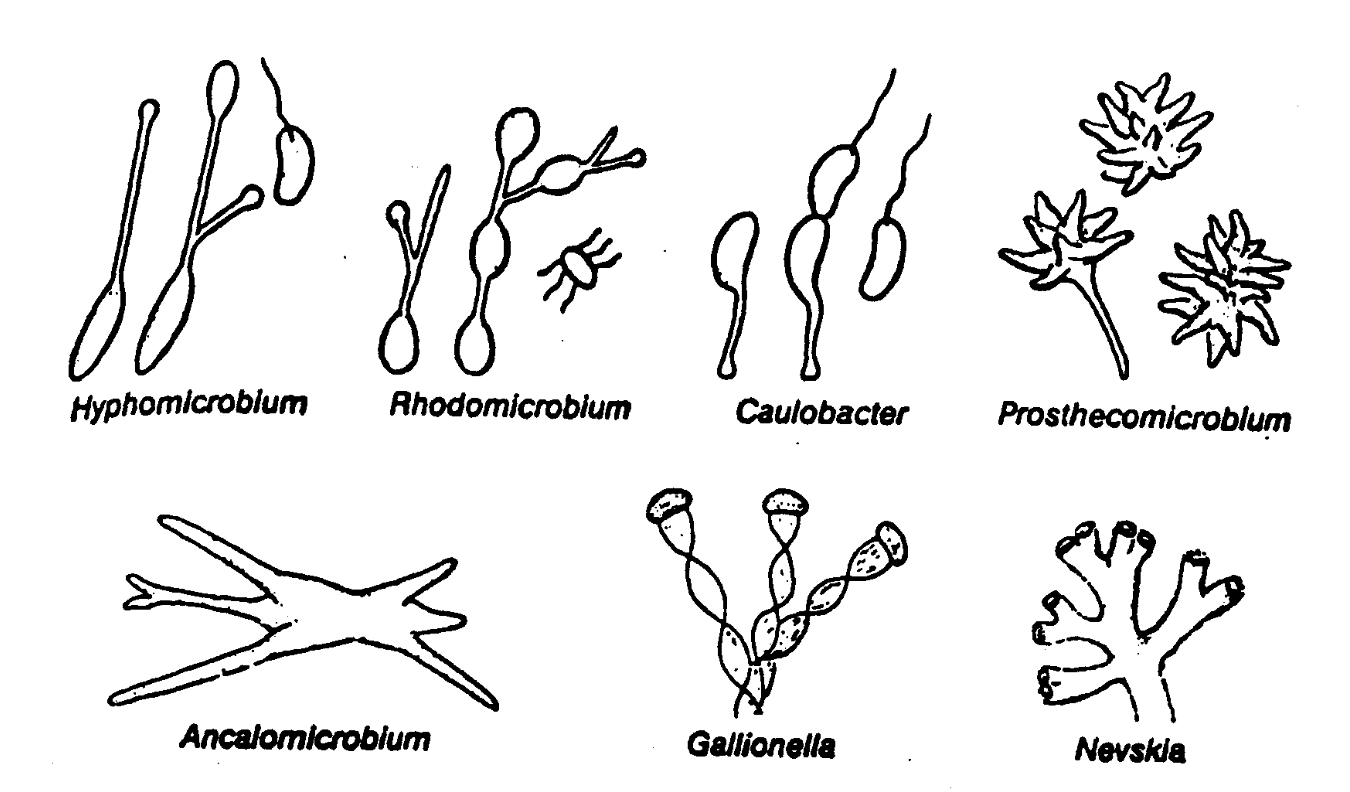
جدول ٧ (٢)- ١٨ : بكتريا سالبة لصبغة جرام ذات تركيبات خاصة مغلفة ، ذات زوائد، ذات سوق ، متبرعمة .

Group 13, Bergey's, 1994 | Group 14, Bergey's, 1994

متبرعمة (L4)		ذات سوق Stalked (L3)* غير متبرعمة	ذات زوائد Prosthecated (L2)* غير متبرعمة	Sheathed مغلفة (L1)
بدون زوائد (ذات سوق)	ذات زوائد			
Blastobacter *Blastocaulis* *Planctomyces*	*Ancalolmic-robium* *Hyphomicrobium* *Hyphomonas*	*Gallionella***, *Nevskia*	*Asticcacaulis* *Caulobacter* *Prostheco-microbium* *Seliberia*	*Cladothrix* *Clonothrix* *Crenothrix* *Leptothrix* *Lieskeella* *Phragmidiothrix* *Sphaerotilus* *Streptothrix*

* بكتريا المجموعة L3 & L2 غير متبرعمة مقارنة ببكتريا المجموعة L4 .

** تتبع الجاليونيلا المجموعة ١٢ ، فى مرجع برجى لعام ١٩٩٤



شكل ٧ (٢) - ٣٨ : أجناس لبكتريا ذات زوائد وذات سوق .

ومن التركيبات الخاصة التى توجد بهذه المجموعة من البكتريا

أ - وجود أغلفة [١] Sheaths حول الخلايا

ب - أو إمتدادات من الخلايا كالزوائد [٢] Prosthecae

جـ - أو السوق [٣] Stalks الممتدة من الخلايا

د - أو وجود براعم كوسيلة للتكاثر

هـ - أو تحرك الخلايا زحفا Gliding وليس بالأسواط

(١) الغلاف Sheath ، عبارة عن تركيب أنبوبى يحيط بسلسلة الخلايا ، وهو من مواد سكرية معقدة Heteropolysaccharides ، وقد يدخل فى تركيب الغلاف أكاسيد وايدروكسيد الحديديك والمنجنيك ، التى تعمل على تقوية الغلاف .

(٢) الزوائد Prosthecae ، مادة خلوية التركيب ، نصف صلبة ، قطرها أقل من قطر الخلية ، تمتد من الجدار والغشاء السيتوبلازمى للخلية وتحتوى على سيتوبلازم ،

(٣) أما السوق Stalks ، فهى مادة غير حية تفرزها الخلية ، وتمتد كالأنبوبة أو الشريط ، ولاتحتوى على سيتوبلازم .

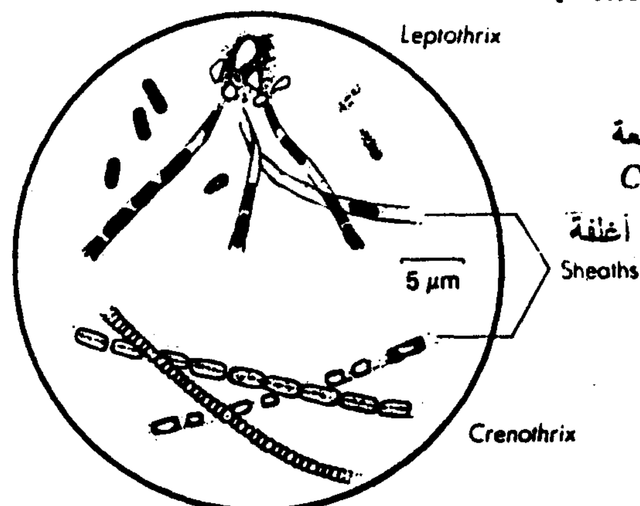
وأنظر ص ٢٠٠ .

وفيما يلى وصفا لهذه المجاميع البكتيرية ، وأهم الأجناس التابعة لها

L1 - البكتريا المغلفة : Sheathed bacteria

بكتريا سالبة لصبغة جرام ، هوائية ، تتجمع فى سلاسل Chains أو فى خيوط كالشعر Trichomes* ، وتكون أغلفة Sheaths حول هذه السلاسل أو الخيوط الشعرية .

تقطن هذه البكتريا فى الأوساط المائية العذبة والبحرية ، وشكل [٧ (٢)-٣٩] يبين خلايا أجناس *Crenothrix & Leptothrix* .



شكل ٧ (٢)- ٣٩
رسوم تبين أشكال البكتريا المغلفة التابعة لجنسى *Crenothrix* and *Leptothirx*

تفرع كاذب
False branching
خلايا مندفعة
(سابحة)
Swarm cells
Holdfast
مثبت
Surface of submerged object
سطح الجسم المغمور
Sphaerotilus

شكل ٧ (٢)-٤٠
رسم يبين البكتريا المغلفة التابعة لجنس *Sphaerotilus*

---

* أنظر تذيل ص ٤٦٤

من أجناس البكتريا المغلفة

Sphaerotilus **(شكل ٧ (٢)- ٤٠) .**

الخلايا عصوية طويلة (حوالى ١,٠ × ٢-١٠ ميكرومتر) ، تتجمع فى سلاسل وقد يصل طول السلسلة لعدة ملليمترات ، وتحيط بالسلسلة غلاف ، وقد يتفرع الغلاف نتيجة إلتصاق الخلايا الحديثة ببعضها ، وتنشأ تفرعات كاذبة False branching .

تنقسم الخلايا ثنائيا داخل الغلاف ، وتنطلق الخلايا من الغلاف (من فتحة أو من ثقب بالغلاف) ، والخلايا المنطلقة عصوية متحركة بأسواط طرفية ، وتسمى خلايا مندفعة (سابحة) Swarm cells .

من الأنواع التابعة لهذا الجنس *S. natans* .

يوجد *S. natans* بالمياه ومياه المجارى ، لذلك قد يعرف أيضا بفطر مخلفات المجارى Sewage mold ، وقد يشار إليه أيضا باسم بكتريا الحديد Iron bacteria .

غلاف خلايا هذه البكتريا رفيع نسبيا ، عضوى التركيب ، غير ملون ، وفى المياه المحتوية على أملاح الحديد ، تترسب إيدروكسيدات الحديد بأغلفة هذه البكتريا ، فيتحول لون الأغلفة الى بنى مصفر .

وتكوّن هذه البكتريا تكتلات لزجة بالمياه وبمياه المخلفات ، مما يسبب مشاكل فى المياه المستخدمة فى الصناعة ، وفى شبكات مواسير المياه ، وفى أحواض ترسيب مياه المجارى .

L2 - البكتريا ذات الزوائد Prosthecated bacteria

من أجناس البكتيريا ذات الزوائد : ***Caulobacter*** [شكلى ٧(٢) ٤١ و ٤٢] .

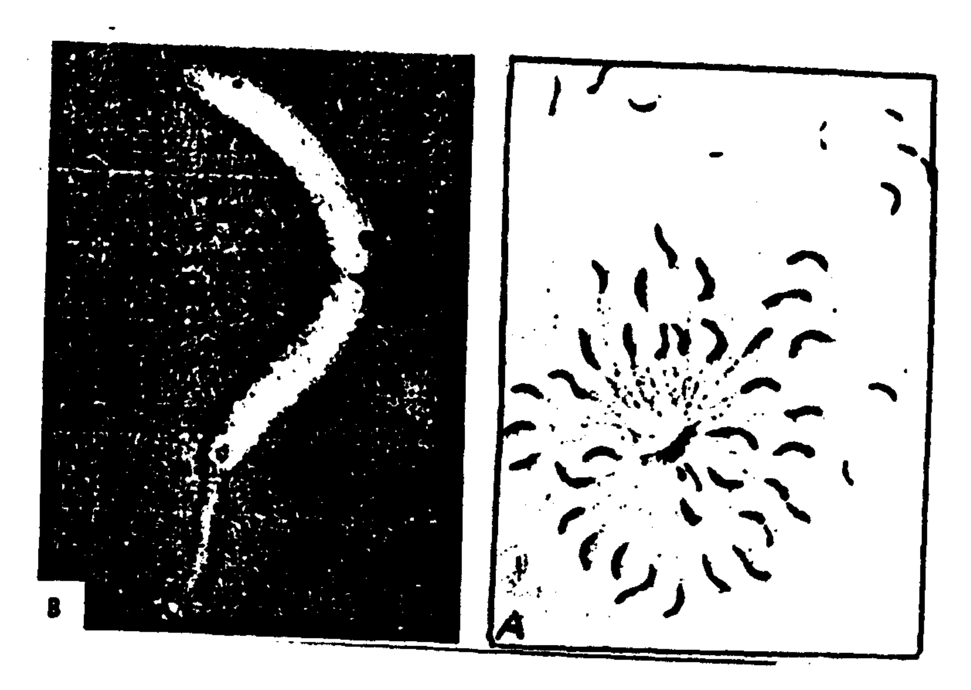
الخلايا هوائية ، عصوية منحنية ، ذات زوائد ، غير متبرعمة ، تتكاثر بالأنقسام الثنائى ، متحركة بسوط طرفى ، وتسمى بالخلايا المندفعة (السابحة) Swarm cells.

يخرج من الخلية زائدة واحدة ، وتنتهى الزائدة بمثبت Holdfast * . وبواسطة المثبت تلتصق الخلايا ببعضها لتكون تجمعاً على شكل الورد Rosettes ، أو يلتصق المثبت بسطح مادة صلبة أخرى ليثبت الخلية بها .

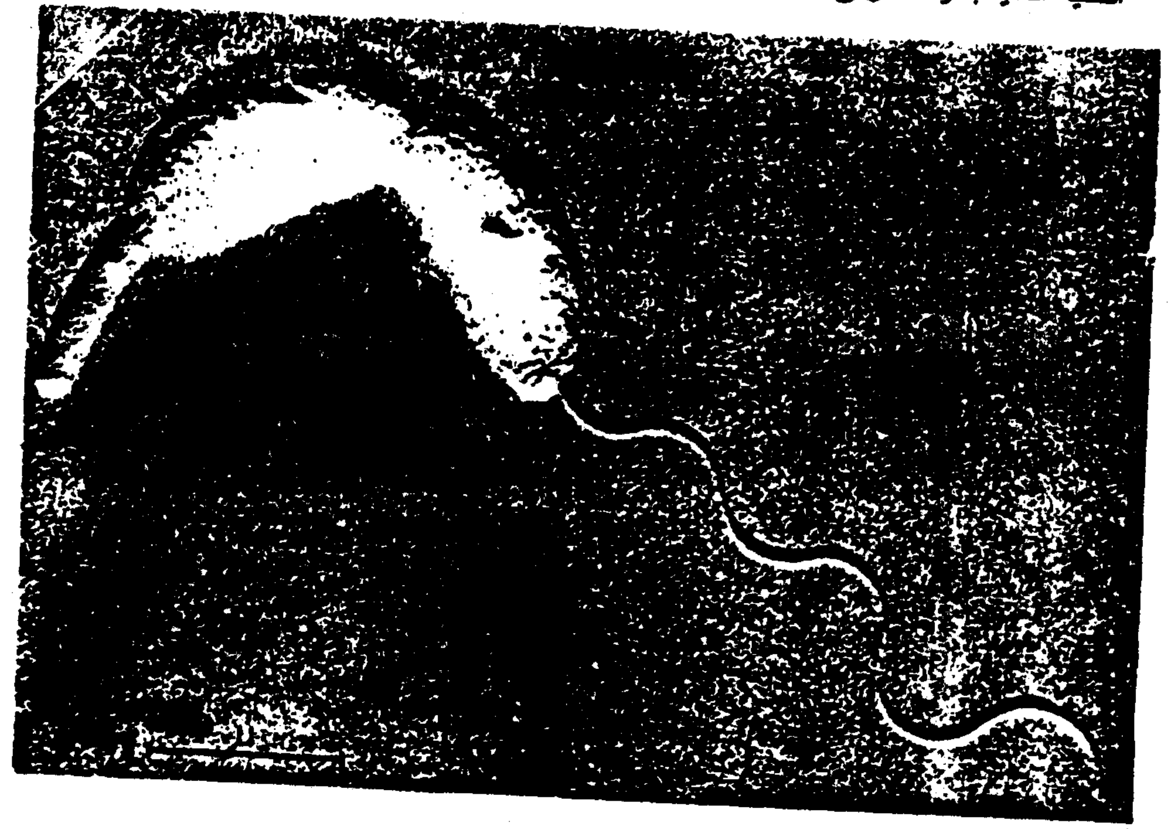
توجد الكولوباكتر فى الأراضى والمياه العذبة ، المالحة ، ومن الأنواع التابعة *C. vibrioides* .

---

* مثبت Holdfast : قرص صغير يوجد فى نهاية الزائدة ، وهو من مادة لاصقة تفرزها الخلية ، ويعمل كلاصق أو كمثبت للخلايا بسطوح المواد الصلبة .



شكل ٧ (٢)- ٤١ : بكتريا ذات زوائد
A : خلايا *Caulobacter* ، متصلة بمثبت واحد مشترك ويأخذ التجمع شكل وردة .
B : خلايا *Caulobacter* (× ١٣,٠٠٠) ، الخلية فى حالة انقسام ثنائى
الخلية العليا بسوط طرفى ، والخلية السفلى ذات زائدة تنتهى بمثبت .

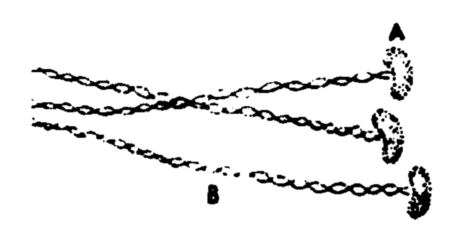


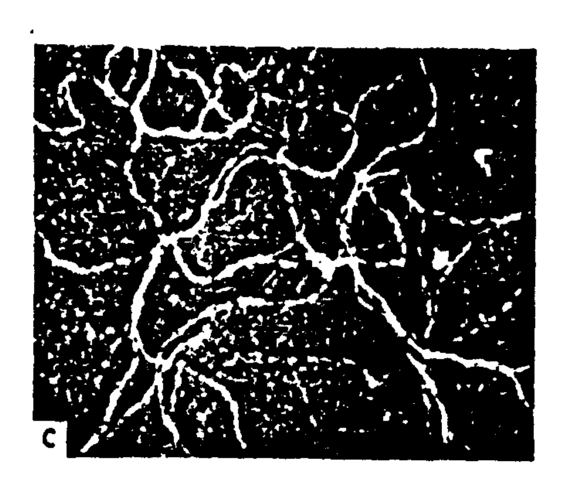
شكل ٧ (٢)-٤٢ : بكتريا واوية *Caulobacter*
صورة بالمجهر الالكترونى للخلية وهى فى حالة انقسام ثنائى ، الخلية لها سوط طرفى من أحد الأطراف ، ومثبت بمثبت من الطرف الأخر .

L3 – البكتريا ذات السوق Stalked bacteria

من أجناس البكتيريا ذات السوق ، جنس *Gallionella* [شكل ٧(٢)-٤٣] .

الخلايا كلوية الشكل (حوالى ٠,٥ × ٢,٠ ميكرومتر) ، ويمتد من وسط الخليــة مــن جهتها المحدبة ، ساقاً لزجة بطول حوالى ٠,٣ ميكرومتر ، مَجدُوله (أى ملتفة حــول محورها) ، وتحتاج الخلايا فى نموها الى فيتامين ب ١٢ ، وهــى غــير متبرعمــة وتتكاثر بالانقسام الثنائى .





شكل ٧ (٢)-٤٣ : بكتريا *Gallionella*
A&B : الخلايا كلوية الشكل ذات سوق تلتف حول محورها .
C : خلايا جاليونيلا معزولة من مياه مالحة ذات سوق طويلة (× ١٤٧) .

تنمو الخلايا فى وجود كمية قليلة من الأكسجين ، وتؤكسد أملاح الحديدوز Fe^{2+} ، الى حديديك Fe^{3+} ، وتعرف هذه البكتريا ، ببكتريا الحديد .

وبسبب قدرة هذه البكتريا على تكوين مركبات حديد مؤكسدة غير ذائبة ، فإن وجودهـا بالمياه يسبب متاعب فى شبكات المواسير .

ومن الأنواع التابعة *G. ferruginea* .

L4 - البكتريا المتبرعمة : Budding bacteria

بكتريا سالبة لصبغة جرام ، هوائية أو إختيارية للهواء ، أو محبة للأكسجين بكمية قليلة ، توجد فى الأوساط المائية .

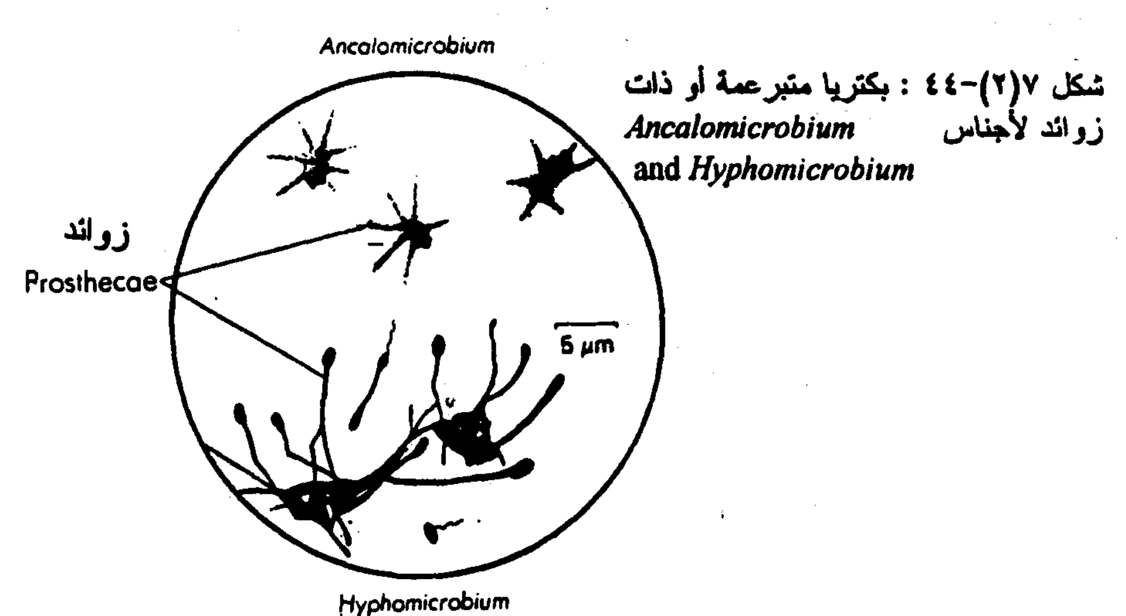
تتميز هذه البكتريا بأنها تتكاثر بالتبرعم ، فيما يشبه التبرعم بالخميرة ، ومنها مايكون ، أو مالايكون ، زوائد .

١- من الأجناس البكتيرية المتبرعمة المكونة لزوائد

أ - *Hyphomicrobium* [شكل ٧ (٢)-٤٤] .

الخلايا كروية أو بيضاوية (حوالى ٠,٥ - ١ ميكرومتر) ، هوائية ، وذات أسواط ، وذات زوائد ، وتخرج الزوائد من أحد أطراف الخلية أو من طرفيها .

ويحدث التبرعم فى أطراف الزوائد ، ثم يتطور البرعم وينضج ليكون الخلية البنوية التى تنفصل من الزوائد .



شكل ٧(٢)-٤٤ : بكتريا متبرعمة أو ذات زوائد لأجناس *Ancalomicrobium* and *Hyphomicrobium*

توجد هذه البكتريا فى الأوساط المائية والمياه الساكنة وفى الأراضى ، وهى تسبب إنطلاق النتروجين من النترات .

ورغم أن جنس *Hyphomicrobium* كيميائى الطاقة ممثل للمواد العضوية Chemo-organotroph ، إلا أنه يتشابه فى كثير من صفاته المورفولوجية مع جنس *Rhodomicrobium* الضوئى الطاقة Phototroph .

من الأنواع التابعة *H. vulgare* .

ب - *Ancalomicrobium* [شكل ٧ (٢)- ٤٤]

بكتريا متبرعمة مكونة لزوائد ، توجد فى الأوساط المائية ، وهى إختيارية للهواء ، وتحمل الخلية الواحدة أكثر من زائدة (من ٣ الى ٨) ، ولاتتكون البراعم بأطراف الزوائد ، ولكن تتكون البراعم مباشرة على الخلية الأم .

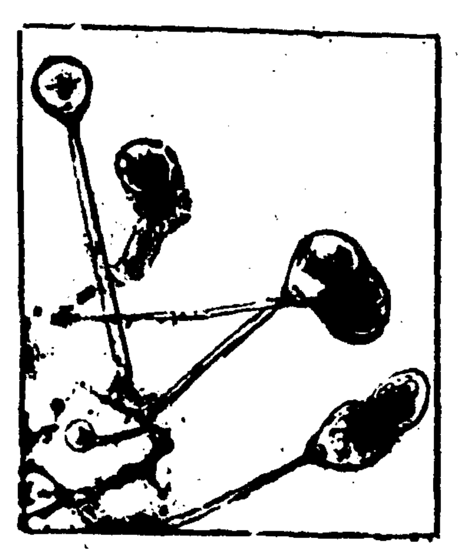
وتتشابه الصفات المورفولوجية لجنس *Ancalomicrobiium* ، مع صفات جنس *Ancalochloris* ، وهذه من بكتريا الكبريت الخضراء الممثلة للضوء .

من الأنواع التابعة ***Ancalomicrobium adetum*** .

٢- من الأجناس البكتيرية المتبرعمة المكونة لسوق ***Blastocaulis & Planctomyces*** [شكل ٧ (٢) - ٤٥] .

الخلايا كروية ، لاتكون زوائد ولكن تكون سوقا Stalks ، ويوجد فى نهاية الساق مثبت Holdfast ، والمثبت هو إمتداد من الساق يعمل كلاصق لخلية الكائن بالسطح.

ويحدث التبرعم بهذه الخلايا ، من الخلية الأم ، وهى توجد بالمياه العذبة والبحرية .



شكل ٧ (٢)- ٤٥ : صورة بالمجهر الالكترونى لخلايا متبرعمة ذات سوق من مجموعة *Blastocaulis – Planctomyces* .

لاحظ بالخلية السفلى التى على اليمين ، نمو لبرعم من الخلية الأم .

(×٤٤٠٠)

L5 - البكتريا الزاحفة Gliding bacteria [جدولى ٧ (٢)-١٩ و ٢٠] .

سالبة لصبغة جرام ، عصوية أو خيطية ، وأغلبها هوائى

بكتريا سالبة لصبغة جرام ، عصوية أو خيطية فى ترايكومات Trichomes* ، ممثلة للمواد الكيميائية والعضوية ، وأغلبها هوائى [جدول ٧ (٢)- ١٩] .

وتتميز هذه المجموعة من البكتريا بحركتها الزاحفة ، بدون أسواط ، على الأسطح الصلبة .

وتضم البكتريا الزاحفه مجموعات بكتيرية متعددة الصفات ، منها

١ - بكتريا عصوية ، تكون أجساما ثمرية
ومثلها مجموعة البكتريا اللزجة Myxobacteria .

٢ - بكتريا عصوية ، لاتكون أجساما ثمرية
ومثلها مجموعة السيتوفاجا *Cytophaga* .

٣ - بكتريا خيطية فى ترايكومات* ، لاتكون أجساما ثمرية ، ممثلة للمواد العضوية لاترسب كبريت بخلاياها ،
ومثلها أجناس *Leucothrix, Saprospira* .

٤- بكتريا مؤكسدة للكبريت ، ترسب الكبريت بداخل خلاياها ، لاتكون أجساما ثمرية ، غير ممثلة للضوء
منها ماهو وحيد الخلية مثل جنس *Achromatium* ، ومنها ماهو خيطى فى ترايكومات مثل *Beggiatoa* ; *Thiothrix* .

كما أن من البكتريا الزاحفة جنس خيطى هو *Chloroflexus* ، وسيناقش مع البكتريا الممثلة للضوء (بكتريا الكبريت الخضراء)** .

وكذلك فإن من البكتريا الزاحفة مجموعة السيانوبكتريا ، التى ستناقش فى أواخر هذا الفصل (ص ٥١٣ ومايليه) .

---

* ترايكوم Trichome ، خيط مكون من مجموعة من الخلايا الثالوسية غير المتمايزة ، المتصلة ببعضها البعض كالسلسلة .

ويتميز الترايكوم بأن مساحة الالتصاق بين الخلايا المتصلة ببعضها ، أكبر من مساحة الالتصاق فى حالة الخلايا المتجمعة كسلسلة .

** أنظر ص ٥١١ ، ٥١٢ .

جدول ٧ (٢) - ١٩ : أجناس البكتريا الزاحفة
سالبة لصبغة جرام ، عصوية أو خيطية ، وأغلبها هوائى .

(Group 15, Bergey's, 1994)			(Group 16, Bergey's, 1994)
عصوية أو خيطية ، لاتكون أجساما ثمريـــــة		عصوية لاتكون أجساما ثمرية	عصوية تكون أجساما ثمرية *
مؤكسدة للكبريت ترسب الكبريت بداخل خلاياها	ممثلة للمواد العضوية لاترسب الكبريت بداخل خلاياها	مجموعة السيتوفاجا	مجموعة البكتريا اللزجة
*Achromatium***	*Alysiella*	*Capnocytophaga*	*Angiococcus*
		Chitinocytophaga	*Archangium*
Beggiatoa	*Leucothrix*	*Cytophaga*	*Condromyces*
	Saprospira	*Flexibacter*	*Melittangium*
Thioploca	*Simonsiella*	*Flexithrix* خيطية	*Myxococcus*
Thiospirillopsis		*Herpetosiphon* خيطية	*Nannocystis*
Thiothrix	*Vitreoscilla*		
		Sporocytophaga (تكون جراثيم لزجة)	*Podangium*
			Polyangium
			Stigmatella

** وحيد الخلية

١- البكتريا الزاحفة العصوية المكونة لأجسام ثمرية (مجموعة البكتريا اللزجة) Gliding fruiting bacteria (Myxobacteria) [جدولى ٧ (٢)-١٩ و ٢٠] .

خلايا هذه البكتريا سالبة لصبغة جرام ، هوائية حتماً ، عصوية لزجة ، تتحرك زحفـاً على الأسطح الصلبة وتنتشر عليها بسرعة ، تاركة خلفها بعد تحركها أثرا لزجاً علـى السطح الصلب ، وبسبب هذه اللزوجة ، جاءت تسمية هذه المجموعة من البكتريـــا ، بالبكتريا اللزجة Myxobacteria .

ولهذه البكتريا دورة حياة معقدة ، وتكون فى أحد مراحل نموها أجساماً ثمرية .

وجدول [٧ (٢) - ٢٠] ، يوضح مميزات بعض أجناس هذه البكتريا .

---

* تحتوى الأجسام الثمرية Fruiting bodies على جراثيم لزجة Myxospores ، وهذه الجراثيم خلايا فى طـــور سكون ، وهى مقاومة للظروف السيئة .

جدول ٧ (٢)-٢٠ : مميزات بعض أجناس البكتريا الزاحفة العصوية المكونة لأجسام ثمرية .

Group 16, Bergey's , 1994

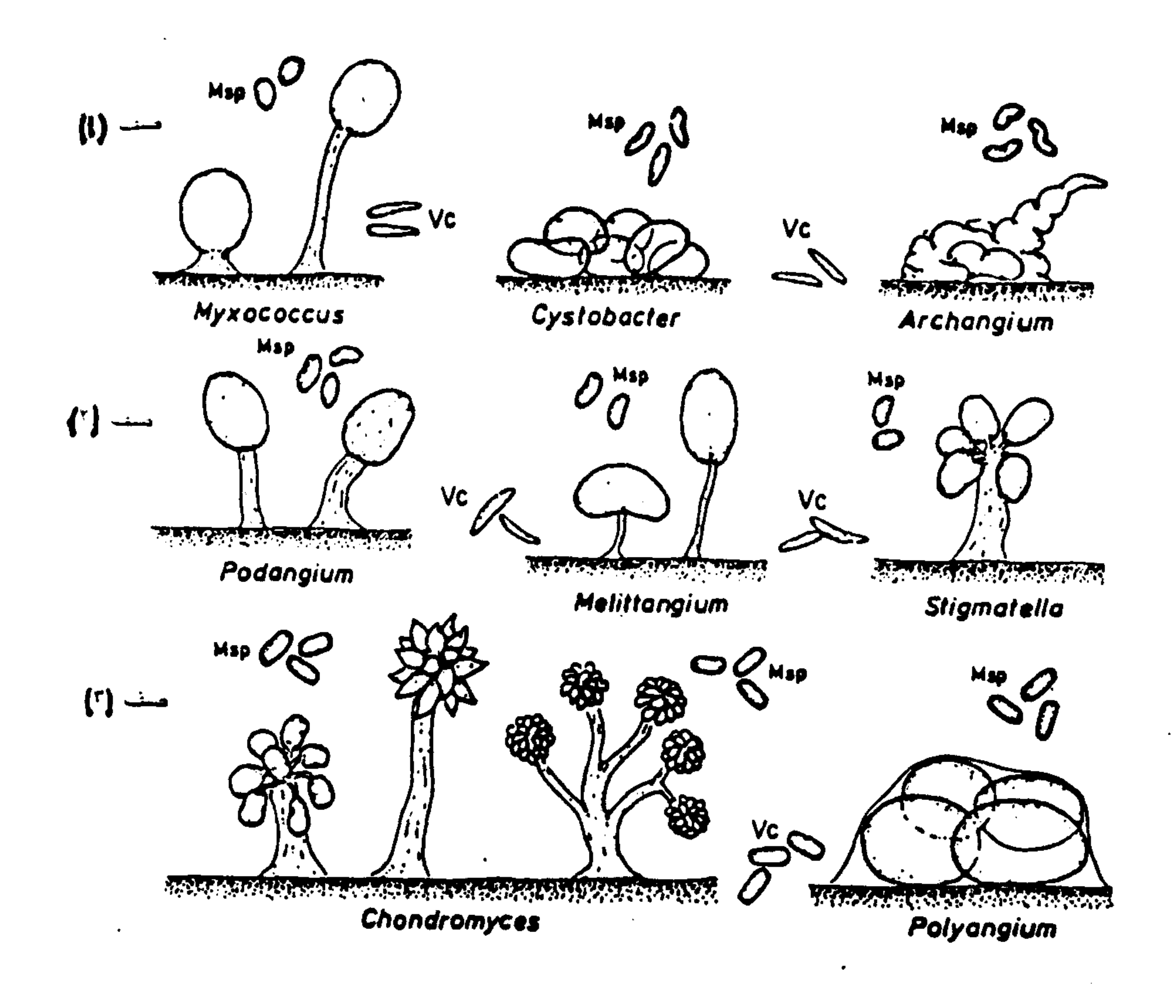
الجنس وأهم الانواع	شكل طرف الخلية الخضرية	الجسم الثمرى		شكل الجرثومة اللزجة	صفات غذائية	
		فى حوصلة	ذو ساق		محللة للبكتريا	محللة للسليلوز
Chondromyces• *C. apiculatus*	مفلطح	+	+	عصوى	+	−
Cystobacter *C. fuscus*	مدبب	+	−	عصوى	+	−
Melittangium *M. lichenicola*	مدبب	+	+	عصوى	+	−
Myxococcus• *M. xanthus*	مدبب	−	−	كروى	+	−
Polyangium•	مفلطح	+	−	عصوى	+	+
Stigmatella *S. aurantiaca*	مدبب	+	+	عصوى	+	−

• قادرة على إختراق آحار البيئة .

الخلايا الخضرية لبكتريا هذه المجموعة عصوية قصيرة مفردة ، ذات جدار مرن لرقة ولعدم تكامل تركيب طبقة الببتيدوجلوكان بجدار الخلية ، وهذا الجدار المرن يساعد البكتريا فى حركتها الزاحفة . وفى أحد مراحل نمو هذه البكتريا ، تتجمع الخلايا الخضرية معاً فى كتل لزجة ، مكونة أجساماً ثمرية Fruiting bodies ، مشابهة فى ذلك الفطريات اللزجة .

والأجسام الثمرية لهذه البكتريا ذات حجم صغير (أقل من ١ مم) ، ويختلف لونها وشكلها وحجمها حسب النوع البكتيرى ، وهى أجسام متخصصة تضم جراثيم لزجة Myxospores ، وهذه قد تسمى Slime spores أو حويصلات صغيرة Microcysts. والجراثيم اللزجة ، خلايا فى طور سكون ، شكلها كروى أو عصوى حسب النوع البكتيرى [جدول ٧ (٢)-٢٠] ، وهى أقصر وأسمك من الخلايا الخضرية ، ولكنها أكثر منها مقاومة للإشعاع والجفاف ، فهى قادرة على البقاء حية لعدة أشهر فى وسط جاف ، ولكنها ليست أكثر مقاومة للحرارة بكثير عن الخلايا الخضرية التى نتجت منها ، وتنبت الجرثومة اللزجة لتكوين خلية خضرية عصوية عند تحسن ظروف الوسط ، خاصة من حيث الرطوبة .

[وشكل ٧ (٢)- ٤٦] يوضح بعض الأشكال الخضرية والثمرية لبعض أجناس البكتريا اللزجة .



شكل ٧ (٢)- ٤٦ : رسوم توضيحية للأشكال الخضرية والأجسام الثمرية لبعض أجناس البكتريا اللزجة.

Msp : جراثيم لزجة Myxospores

Vc : خلايا خضرية Vegetative cells

- الخلايا الخضرية لأجناس صف ١ وصف ٢ ، عصوية ، مدببة الطرفين Pointed ends ، أى مغزلية الشكل Spindle-shaped .
- الخلايا الخضرية لأجناس صف ٣ عصوية بطرف مفلطح Blut end .

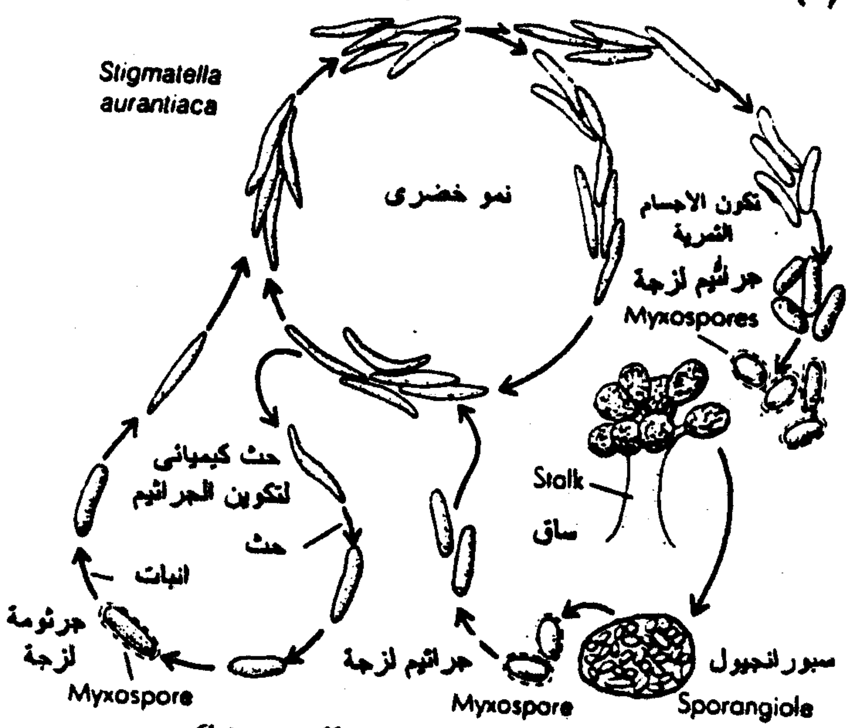
قد تكون الأجسام الثمرية ملونة فى بعض الأنواع ، كما قد توجد بعض الأجسام الثمرية محمولة على ساق Stalk من مواد لزجة ، قد يكون الساق غير متفرع ويحمل جسما ثمريا واحدا كما فى جنس *Melittangium* ، أو يكون الساق متفرعا كالشجرة ، ويحمل عدة أجسام ثمرية ، كما فى جنس *Chondromyces & Stigmatella* ، كما قد يغلف الجسم الثمرى بجدار ، ويكون جسما مغلقا .

وتسمى الأجسام المغلقة بحويصلات Cysts ، أو سبورانجيول Sporangiole .

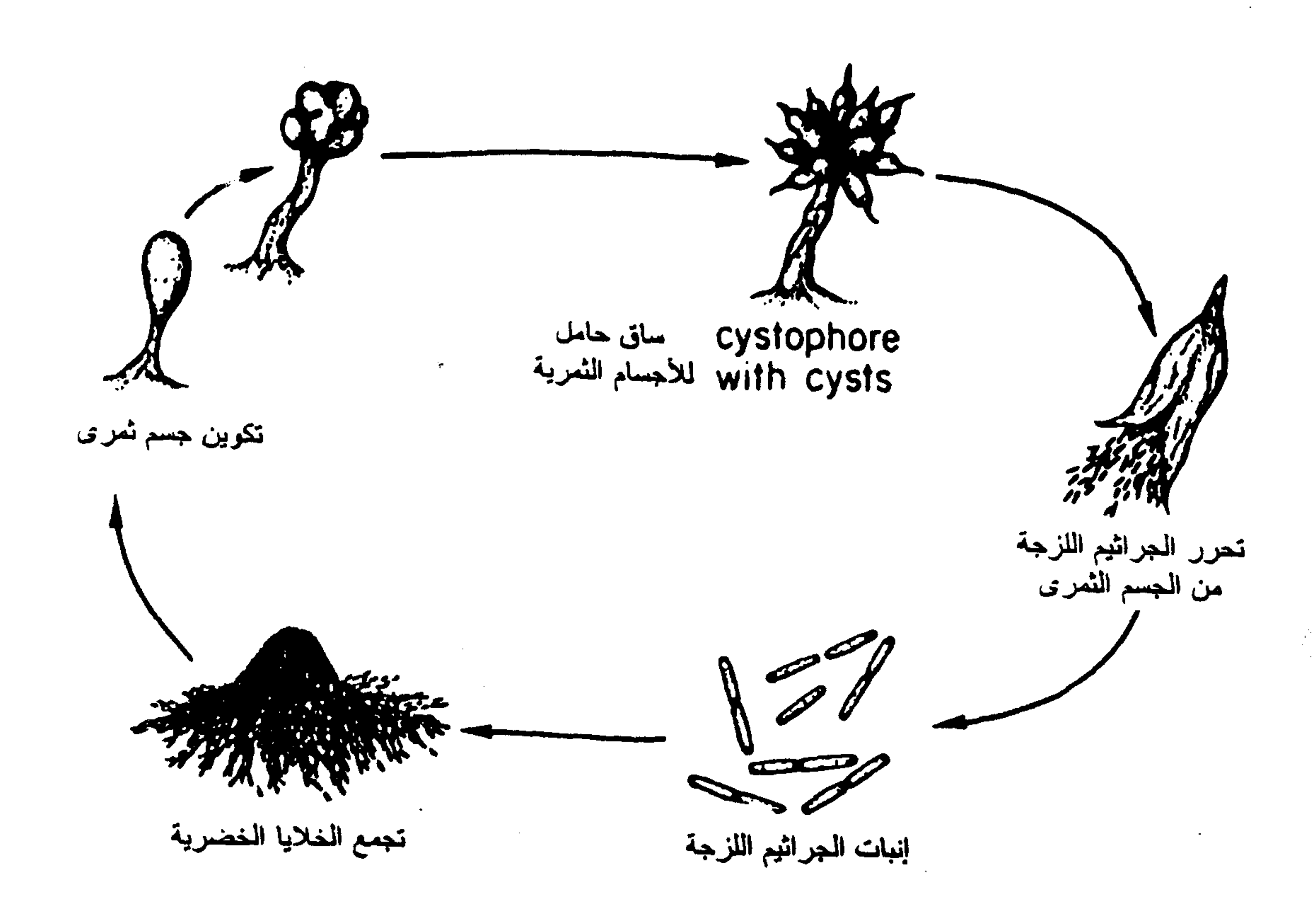
والحويصلة ، عبارة عن وعاء صغير ذو جدار سميك ، يحتوى على عدد من الجراثيم اللزجة ، وهذه الحويصلات مقاومة للظروف السيئة ، وتساعد على نشر وتوزيع الجراثيم اللزجة ، وعند توفر الرطوبة وتحسن الظروف البيئية ، يتمدد جدار الحويصلة ويتشقق ، ويتحرر مابالحويصلة من جراثيم لزجة ، وتنبت تلك الجراثيم اللزجة ، لتكون خلايا خضرية عصوية جديدة وتتواصل دورة الحياة .

مجموعة البكتريا اللزجة هوائية حتما ، هتروتروفية ، تتكاثر بالانقسام الثنائى ، وتوجد على سطح التربة وبالأسمدة العضوية والمواد المتحللة ، وبروث الحيوانات العشبية ، ومنها مايفرز انزيمات خارجية محللة للمواد العضوية المعقدة ، كالسليلوز والبكتين والأجار ، ومنها مايحلل جدر خلايا الكائنات المجهرية كالبكتريا والسيانوبكتريا والفطريات ويتغذى على محتوياتها ، كما أن منها أنواع تفرز مضاداتا حيوية .

ويوضح الشكل [٧ (٢) - ٤٧] ، دورة حياة *Stigmatella aurantiaca* ، كما يوضح الشكل [٧ (٢) - ٤٨] ، دورة حياة *Chondromyces apiculatus* .



شكل ٧ (٢) ٤٧ : دورة حياة البكتريا اللزجة *Stigmatella aurantiaca* .
لاحظ : الخلايا الخضرية ، الجراثيم اللزجة ، الأجسام الثمرية .



شكل ٧ (٢) - ٤٨ : دورة حياة البكتريا اللزجة *Chondromyces apiculatus* .
بعد تجمع الخلايا الخضرية ، يتكون جسم ثمرى له ساق لزجة ، وعند الانبات تخرج الجراثيم اللزجة من الجسم الثمرى ، لتنبت وتكون خلايا خضرية ، وتستمر الدورة .

٢ - البكتريا الزاحفة العصوية ، غير المكونة لأجسام ثمرية (مجموعة السيتوفاجا)

Gliding, non-fruiting bacteria (Rods) [جدولى ٧ (٢) - ١٩ و ٢١]

بكتريا ذات حركة زاحفة مثل مجموعة البكتريا اللزجة السابقة المكونة لأجسام ثمرية، ولكن تختلف عنها فى عدم تكوينها لأجسام ثمرية ، باستثناء الجنس *Sporocytophaga* المكون لجراثيم لزجة .

توجد هذه البكتريا كعصويات مفردة ، وبعضها كخيوط يصل طوله الى ١٠٠ ميكرومتر ، وبعضها يكون خيوطا لها غلاف كما فى جنس *Flexithrix* . وأغلب أجناس هذه المجموعة هوائى وبعضها محب للأكسجين بكمية قليلة ، وتتكاثر بالانقسام الثنائى ، وهى هتروتروفية ، وتعيش فى التربة والمياه ، وعدد كبير منها قادر على تحليل المواد العضوية المعقدة كالسليلوز والكيتين والبكتين والكيراتين والأجار .

وجدول [٧ (٢) - ٢١] وشكل [٧ (٢) - ٤٩] يوضحان مميزات بعض أجناس البكتريا الزاحفة غير المكونة لأجسام ثمرية .

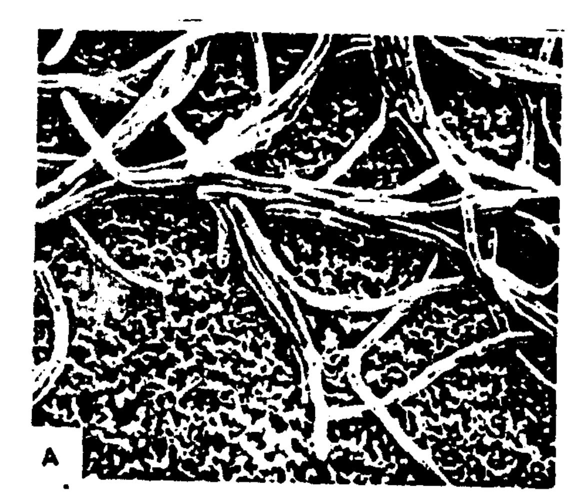
جدول ٧ (٢)- ٢١ : مميزات بعض أجناس البكتريا الزاحفة العصوية غير المكونة لأجسام ثمرية .

(Group 15, Bergey's, 1994)

الجنس وأهم الأنواع	شكل الخلية الخضرية	تكوين جراثيم لزجة	النمو على المواد المعقدة كالسليلوز والكيتين
Cytophaga *C. johnsonae*	عصوى مفرد	−	+
Sporocytophaga *S. myxococcoides*	عصوى مفرد	+	+
Flexibacter *F. columnaris*	عصوى طويل مفرد أو فى سلاسل	−	−
Herpetosiphon *H. giganteus*	خيطى	−	−

شكل ٧ (٢) - ٤٩

الأشكال المورفولوجية المختلفة لبعض أجناس البكتريا الزاحفة غير المكونة لأجناس ثمرية .



A - *Flexibacter polymorphus*

الخلايا عصوية طويلة متجمعة على سطح مرشح غشائى (× ٧٣٠) .



B - *Herpetosiphon giganteus*

خيوط الخلايا على سطح أجار ، لاحظ وجود كرويات منتفخة لامعة بالخيوط (×٥٠٠) .

من أجناس هذه المجموعة

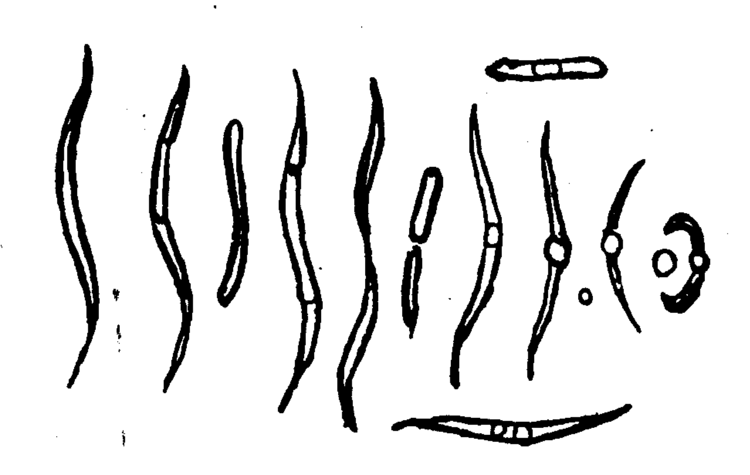
أ - *Cytophaga*

الخلايا عصوية طويلة منحنية ، مدببة الطرفين (مغزلية الشكل) [شكل ٧ (٢)- ٥٠] ، وقد توجد بعض أنواعها فى سلاسل ، وهى هوائية وإن كانت بعض أنواعها إختيارية للهواء قادرة على تخمير الكربوهيدرات إلى احماض عضوية كالسكسنيك .

وهذه البكتريا ذات جدار مرن ، وحركتها زاحفة كالبكتريا اللزجة ولكنها لاتكون أجساماً ثمرية ، وتتكاثر بالانقسام الثنائى ، ومنها مايكون مستعمراتاً ملونة (صفراء ، حمراء ...) لإحتوائها على صبغات كاروتينويدية .

تتواجد السيتوفاجا بالتربة ، وتتميز بقدرتها العالية على تحليل السليلوز وورق الترشيح هوائيا ، بعد التصاقها بتلك المواد .

ومن أنواعها ***C. johnsonae*** .



شكل ٧ (٢)-٥٠ : تطور بكتريا *Cytophaga* فى شكلها الظاهرى أثناء نموها .

ب - *Sporocytophaga*

تتشابه صفات هذا الجنس مع صفات جنس سيتوفاجا ، ولكن فى أحد أطوار دورة حياة السبوروسيتوفاجا ، تتحول الخلايا الخضرية المغزلية الشكل ، الى كروية ، وتحاط هذه بكابسول وتدخل فى طور سكون ، مكونة بذلك مايشبه الجراثيم اللزجة لبكتريا *Myxococcus* .

ومن أنواعها *S. myxococcoides* .

جـ - *Flexibacter*

الخلايا عصوية طويلة تصل الى حوالى ٥٠ ميكرومتر ، مرنة الجدار ، وقد تتجزأ الخلايا نتيجة الاسترراع المستمر إلى خلايا كروية ، وكثير من أنواع هذا الجنس يكون صبغات كاروتينويدية ذات لون مصفر إلى وردى .

تعيش فى المياه وفى الأراضى ، والنوع *Flexibacter columnaris* (سابقا *Chondrococcus columnaris*) ، ممرض لأسماك المياه العذبة والمياه المالحة.

٣- البكتريا الزاحفة الخيطية غير المكونة لأجسام ثمرية ، وممثلة للمواد العضوية

Gliding Non-fruitiing filamentous Heterotrophic bacteria [جدولى ٧ (٢) ١٩ و٢٢]

بكتريا ذات حركة زاحفة ، خيطية فى ترايكومات ، غير مكونة لأجسام ثمرية ، وهى ممثلة للمواد العضوية دون أن ترسب الكبريت فى خلاياها .

من أجناسها

أ - ***Leucothrix***

الخلايا خيطية طويلة ، هوائية ، تنمو على سطح الطحالب البحرية ، كما تتجمع خيوط الخلايا فى خُصل وتلتصق الخصلة بالسطح الصلب وتثبت عليه ، وذلك بواسطة مثبت Holdfast ، يوجد بقاعدة الخيط .

تتكاثر الليكوثركس بالجراثيم الجونيدية Gonidia ، وهى خلايا تكاثر لاجنسية بيضاوية الشكل ، تتكون بطرف الخيط ، ثم تنفصل من الخيط وتتحرك حركة زاحفة على الأسطح الصلبة .

ب - ***Vitreoscilla***

الخلايا خيطية طويلة ، قد يصل طول الخيط الى ٥٠٠ ميكرومتر ، ويتكون الخيط من خلايا اسطوانية منحنية طولها حوالى ٢-٥ ميكرومتر ، وهى هوائية ، عديمة اللون ، وتتكاثر بتجزئة الخيط .

توجد هذه البكتريا عادة فى الأوساط المائية ، كما توجد كقاطنات طبيعية بفم الانسان وبعض الحيوانات ، ويمكن عزلها من روث البهائم .

ويوضح جدول [٧ (٢) - ٢٢] ، مميزات بعض أجناس البكتريا الزاحفة الخيطية الممثلة للمواد العضوية .

جدول ٧ (٢) - ٢٢ : مميزات بعض أجناس البكتريا الزاحفة الخيطية غير المكونة لأجسام ثمرية ، الممثلة للمواد العضوية .

(Group 15, Bergey's 1994)

الجنس وأهم الانواع	شكل الخيط	حركة الخيط	وجود مثبت	طريقة التكاثر
Leucothrix *L. mucor*	اسطوانى مستقيم	-	+	جونيديا من طرف الخيط
Saprospira *S. albida* *S. grandis*	اسطوانى منحنى	+	-	تجزؤ الخيط
Simonsiella *S. crassa*	شريطى مسطح	+	-	تجزؤ الخيط
Vitreoscilla *V. filiformis*	اسطوانى مستقيم	+	-	تجزؤ الخيط

٤- البكتريا الزاحفة غير المكونة لأجسام ثمرية ، المؤكسدة للكبريت

Gliding non-fruiting sulfur-oxidizing bacteria [جدول ٧ (٢) - ١٩]

بكتريا ذات حركة زاحفة ، منها ماهو وحيد الخلية كبير الحجم كما فـــى خلايـــا جنـــس *Achromatium* ، ومنها ماهو خيطى فى ترايكومات كما فى خلايا أجناس *Thiothrix* ، و *Beggiatoa* .

وخلايا هذه المجموعة من البكتريا غير ممثلة للضوء ، غير مكونة لأجســـام ثمريـــة ، وتؤكسد H_2S هوائيا إلى S و SO_4^{2-} كمصدر للطاقـــة ، وترســـب الكـــبريت بداخـــل خلاياها ، وتخزنه لحين الحاجة اليه .

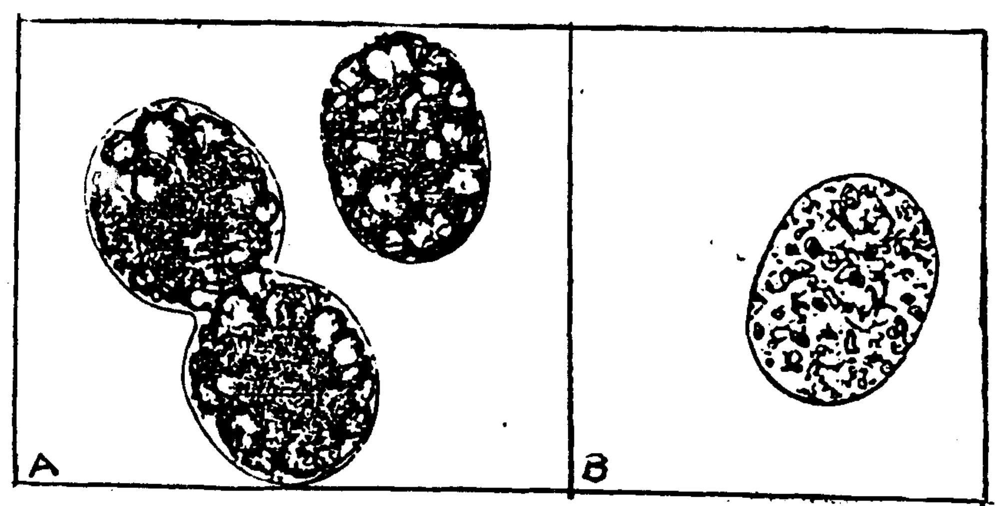
وهى بكتريا ذات إحتياجات غذائية خاصة ، تحتاج الى وجود H_2S مـــع كميـــات مـــن الأكسجين لأكسدة كبريتيد الإيدروجين ، ولذا فانها توجد فى الأوساط التى مابين الهوائية الى اللاهوائية ، المحتوية على كبريتيد مع نسبة من الأكسجين ، كأوســـاط المخلفـــات المائية المحتوية على مواد عضوية متحللة منتجة لكبريتيد الإيدروجين ، ومياه مخلفـــات المجارى ، والرواسب الطينية للبرك والمستنقعات ، والينابيع المحتويـــة مياهـــها علـــى كبريتيد .

من الأجناس التابعة لهذه المجموعة من البكتريا الزاحفة المؤكسدة للكبريت

أ - *Achromatium*

أفراد هذا الجنس وحيدة الخلايا ، والخلايا عملاقة الحجم ، بطيئة النمو ، وتجمع الكبريت بداخل خلاياها [شكل ٧ (٢)- ٥١] .

ومن أنواعها *A. oxaliferum* .



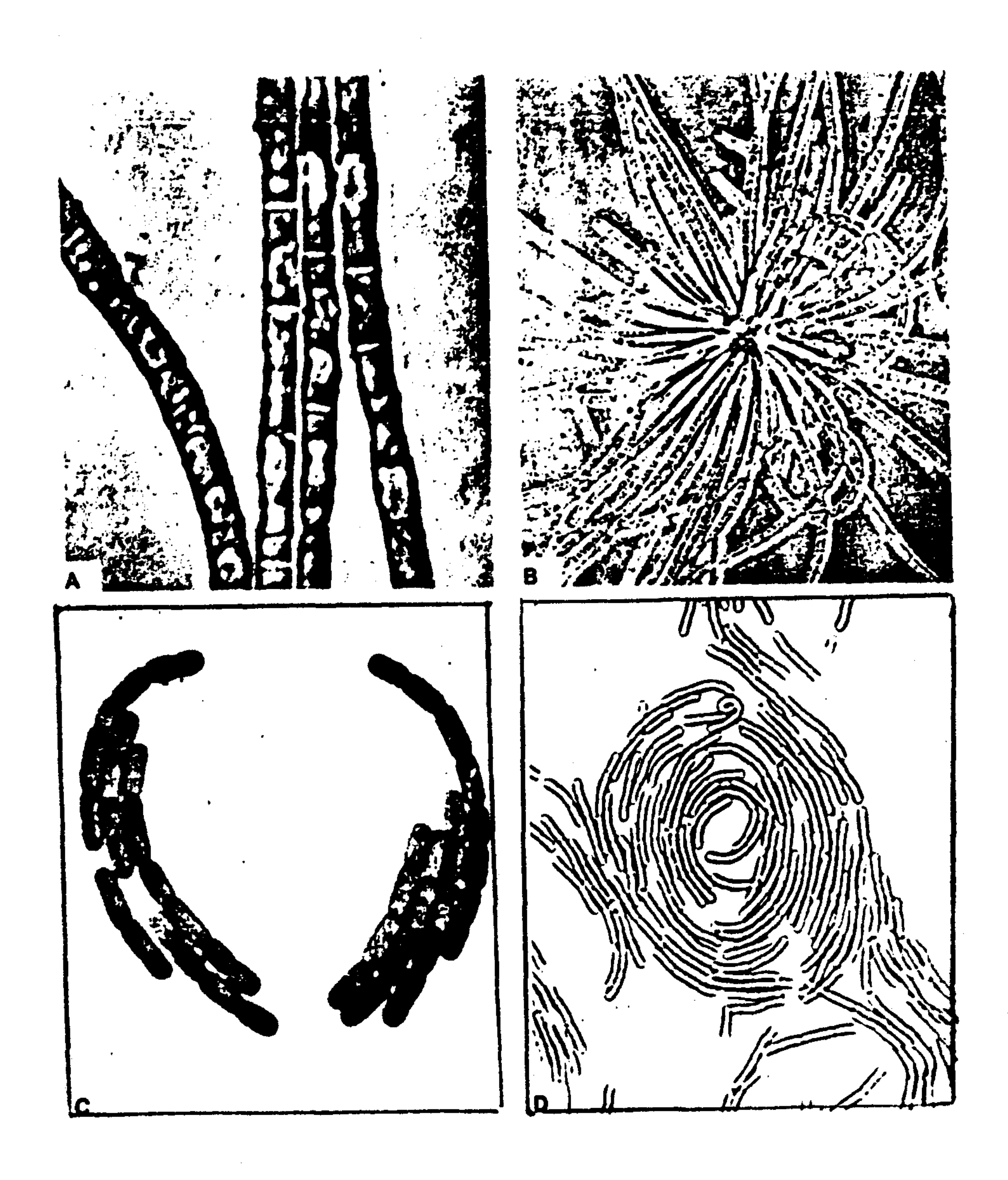
شكل ٧ (٢) – ٥١ : بكتريا *Achromatium oxaliferum* (× ٦٠٠)
A : خلايا بكتيرية كبيرة الحجم محتوية على حبيبات $CaCO_3$ & S
B : خلايا البكتريا (A) عوملت بحامض خليك مخفف ، لإذابة تجمعات كربونات الكالسيوم، فظهرت حبيبات الكبريت .

ب - *Beggiatoa*

خلايا أفراد هذا الجنس تتجمع فى ترايكومات ، يصل طول الترايكوم لعدة ملليمترات ، وسمك الخلية يتراوح مابين ٢ الى ٥ ميكرومتر . وهى خلايا هوائية أو محبة لكمية قليلة من الأكسجين ، غير ملونة ، ترسب الكبريت بداخلها ، مما يجعل لون الترايكوم أبيضا .
تتكاثر البجياتو بالأنقسام الثنائى للخلايا الفردية المكونة للترايكوم ، كما تتكاثر بتجزؤ خيط الترايكوم ، وتوجد فى الأوساط المائية والمخلفات والترسبات المحتوية على H_2S.
من أنواعها *B. alba* .

جـ - *Thiothrix*

خلايا فى ترايكومات ، وتتجمع الترايكومات فى خُصل وتلتصق بالأسطح الصلبة . وتحتوى الخلايا على فجوات غازية تساعدها على الطفو ، وترسب الخلايا الكبريت بداخلها .
وتتكاثر الثيوثريكس بالجونيديا (أنظر *Leucothrix* ، ص ٤٧٣) .
والشكل [٧ (٢) – ٥٢] يوضح بعض الأشكال المورفولوجية للبكتريا الزاحفة غير المكونة لأجسام ثمرية .



شكل ٧ (٢)- ٥٢ : أشكال مورفولوجية لبعض أجناس البكتريا الزاحفة غير المكونة لأجسام ثمرية

A - ترايكومات بكتريا *Beggiatoa* × ٢٢٥٠

B - ترايكومات بكتريا *Thiothrix* مرتبطة بشيء مشترك ثابت (×٤٢٠)

C - شكل خلايا *Vitreoscilla* .

D - نظام تجمع خلايا *Vitreoscilla* .

M - الريكتسيات والكلاميديات : The Rickettsias and Chlamydias

بكتريا سالبة لصبغة جرام ، متطفلة إجباراً ، ممرضة [جدول ٧ (٢)-٢٣]

تضم هذه المجموعة البكتيرية كلاً من الريكتسيات والكلاميديات ، [جدول ٧ (٢)-٢٣] ، وهى تشمل أجناسا بكتيرية سالبة لصبغة جرام ، كروية أو عصوية ، ذات جدار صلب ، غير متحركة ، وهى بالغة الصغر حجما ، إذ أنها أصغر بكثير من البكتريا النموذجية ، وإن كانت مازالت فى حدود الرؤية المجهرية الضوئية .

بكتريا هذه المجموعة متطفلة إجبارا داخل خلايا العائل كالانسان وبعض الحيوانات ومفصليات الأرجل ، وتعمل المفصليات كناقلات لتلك البكتريا . ويمكن عزل البكتريا وزراعتها فى خلايا العائل ، وأحياناً يمكن زراعتها فى بيئات معملية مناسبة .

وهذه المجموعة البكتيرية ممرضة للإنسان وبعض الحيوانات ، وهى تنتقل من عوائلها كمفصليات الأرجل إلى الانسان باللدغ ، أو عن طريق خدش أو جرح ، أو بالاستنشاق ، أو من مواد ملوثة .

ورغم أن هذه البكتريا متطفلة إجبارا ، وحجمها صغير جداً ، وفى بعض الأنواع يقرب من حجم الفيروسات الكبيرة كفيروس الجدرى ، إلا أنها تتشابه مع البكتريا النموذجية فى كثير من الصفات .

وجدول [٧ (٢)- ٢٤] يوضح الخصائص الرئيسية للبكتريا النموذجية والريكتسيات والكلاميديات والفيروسات .

M1 - الريكتسيات : Rickettsias

الريكتسيات خلايا متطفلة إجبارا داخل خلايا العائل ، ووهى ممرضة للإنسان وبعض الحيوانات ، وتختلف الريكتسيات عن الكلاميديات فى الآتى

* قدرة الريكتسيات على تخليق ATP .
* إفتقاد الريكتسيات لدورة حياة معقدة ، التى تتميز بها الكلاميديات .
* وجود حامض ميراميك بجدار خلايا الريكتسيات .

والريكتسيات [شكلى ٧ (٢) - ٥٣ و ٥٤) كروية أو عصوية ، صغيرة الحجم ، غير متحركة ، سالبة لصبغة جرام .

وترتبط الريكتسيات بالعديد من مفصليات الأرجل التى تعمل كناقلات للريكتسيا الى الفقاريات ، وقد تسبب الريكتسيات أمراضا لتلك المفصليات ، أو تتعايش معها بداخل خلاياها فى حالة تبادل منفعة ، لتقدم لعائلها بعض مايلزم لنموه وتكاثره من فيتامينات وعوامل نمو ، وتظهر الريكتسيا فى براز تلك المفصليات .

جدول ٧ (٢) - ٢٣ : أجناس بكتيرية متطفلة إجبارا ممرضة سالبة لصبغة جرام مجموعة الريكتسيات والكلاميديات .

(Group 9, Bergey's, 1994)

The Chlamydias الكلاميديات (M2)	The Rickettsias الريكتسيات (M1)
Chlamydia	*Coxiella* *Rickettsia* *Rochalimaea**

* تتبع الروكاليميا مجموعة ٤ ، فى مرجع برجى لعام ١٩٩٤

جدول ٧ (٢)- ٢٤ : أهم خصائص البكتريا النموذجية والريكتسيات والكلاميديات والفيروسات.

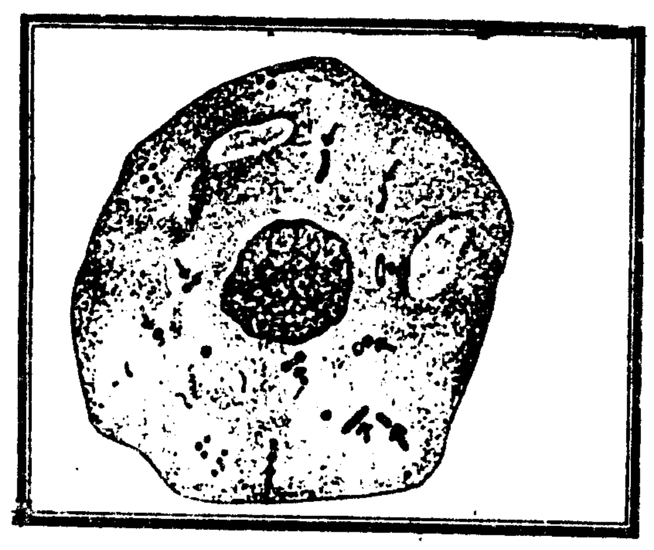
الفيروسات	الكلاميديات	الريكتسيات	البكتريا النموذجية	الخاصيـــــة
-	+	+	+	الرؤية بالمجهر الضوئى (× ١٥٠٠) ....
-	+	+	+	التكاثر بالإنقسام الثنائى ....
يوجد حامض واحد فقط DNA أو RNA	+	+	+	وجود الحامضين النوويين DNA & RNA ....
-	-**	+	+	وجود حامض ميراميك بالجدار الخلوى ....
-	+	+	+	وجود رايبوسوم ....
-	+	+	+	وجود انزيمات نشطة خاصة بالأيض الغذائى ....
-	+	+	+	تثبيط بمضادات البكتريا (مثل المضادات الحيوية) ....
-	+	+	+	التأثر بانزيم اللايسوزيم ....
-	-	+	+	تخليق ATP كمصدر للطاقة ....
+	+	+	-*	تطفل إجبارى بداخل خلية العائل ....

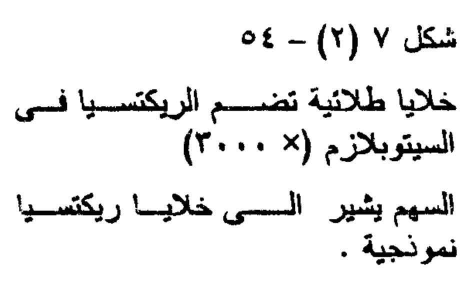
* عدا بكتريا الجذام ، لأنها متطفلة إجبارا .

** بعض سلالات الكلاميديا قادرة على تخليق مشتقات من الببتيدوجلوكان .



شكل ٧ (٢)- ٥٣
Rickettsia prowazekii
(× ١٥٠٠)
نامية فى مزرعة جنين كتكوت .





شكل ٧ (٢) - ٥٤

خلايا طلائية تضـــم الريكتســيا فـــى السيتوبلازم (× ٣٠٠٠)

السهم يشير الـــى خلايــا ريكتسـيا نمونجية .

من الأجناس التى تتبع الريكتسيات : *Rickettsia, Rochalimaea, Coxiella*

Genus Rickettsia

تتميز أفراد هذا الجنس بأن خلاياها

- سالبة لصبغة جرام ، كروية أو عصوية قصيرة ، (حوالى ٠,٣ × ١,٠ ميكرومـــتر) ، فهى أصغر حجما من البكتريا النموذجية ، وأكبر حجما من الفيروسات ، ولا تمر مـــن المرشحات البكتيرية ، وهى غير متحركة ، وغير متجرثمة .
- تتكاثر بالانقسام الثنائى ، وقد تتجمع بعد الانقسام فى سلاسل قصيرة .
- متطفلة إجبارا بداخل الخلايا ، وتتكاثر بداخل سيتوبلازم خلية العائل وأحيانـــا بنـــواة خلية العائل .
- تنتقل للفقاريات عن طريق مفصليات الأرجل ، كالقمل والبراغيث والقراد* والحَلَـــم* ، حسب نوع البكتريا ، وذلك باللدغ ، أو عن طريق جرح أو خدش ، أو من براز ملـــوث من تلك المفصليات .
- يمكن تنمية الريكتسيا معمليا فى عائل حيواني كالفئران وخنازير غينيا ، أو فى خلايـــا جنين الكتكوت الحى ، أو فى مزارع نسيجية .
- الريكتسيا ممرضة للإنسان وبعض الحيوانات

وجدول [٧ (٢) – ٢٥] ، يوضح بعض الأمراض التى تسببها الريكتســـيا والروكاليميـــا للإنسان .

جدول ٧ (٢) – ٢٥ : الأمراض التى تسببها الريكتسيا والروكاليميا ، والعوائل المفصلية الناقلة.

البكتريا المسببة	المرض	الناقل الحيوى
Rickettsia *R. akari*	الطفح الريكتسي بالانسان Ricketsiai pox	حَلَم الفئران Mouse mite
R. prowazekii	حمي التيفوس Typhus fever	قمل الجسم Body louse
R. rickettsii	حمي جبال روكي المبقعة Rocky mountain spotted fever	القراد Ticks
R. tsutsugamushi	حمي الحك Scrub fever	الحَلَم الأحمر Red mites
R. typhi	مرض التيفوس الفئراني Murine typhus	البراغيث Fleas
Rochalimaea quintana	حمي الخنادق Trench fever	قمل الجسم Body louse

* القراد Ticks والحَلَم Mites ، مفصليات أرجل صغيرة الحجم ، جسمها غير مقسم لحلقات ، ومندمج فيه الرأس والصدر والبطن ، والحيوان الكامل له أربعة أزواج من الأرجل ، وأجزاء الفم قارضة أو ثاقبة ماصـــة ، ومنها أنواع ناقلة للمسببات المرضية .

Genus *Rochalimaea*

يختلف هذا الجنس عن جنس ريكتسيا ، فى أنه يفضل النمو على سطح خليـــة العـــائل ، أكثر من نموه بداخلها فى السيتوبلازم أو فى النواة ، كما أنه يمكن زراعتة معمليا فى بيئة مقواة ، وأساسها أجار الدم .

يتبع هذا الجنس النوع *R. quintana* ، المسبب لمرض حمى الخنادق للانســـان Trench fever [جدول ٧ (٢) - ٢٥] .

Genus *Coxiella*

يتميز أفراد هذا الجنس عن جنس ريكتسيا ، فى أن الكوكسيلا

* تفضل النمو فى أغشية الفجوات الخلوية لخلايا العائل ، عن النمو فى ســـيتوبلازم أو فـــى نواة خلية العائل .
* تمر من المرشحات البكتيرية .
* لها قدرة كبيرة على مقاومة الحرارة المرتفعة ، فهى تتحمـــل حـــرارة حتـــى ٦٢°م لمـــدة ٣٠ دقيقة ، وقد يعود ذلك إلى وجود تركيبات بالخلايا تشبه الجراثيم الداخلية .
* تنتقل الكوكسيلاً الى الفقاريات بواسطة مفصليات الأرجل كالقراد ، كمـــا تنتقـــل بوســـائل أخرى ، منها استنشاق ذرات التراب الحاملة للكوكسيلا ، أو بشرب لبن ملـــوث ، أو لبـــن غير مبستر جيدا ، أو بالاحتكاك بالحيوانات المصابة كالغنم والابقار .

يتبع هذا الجنس نوعا واحدا هو *C. burnetii* ، المسبب لنوع من الالتهاب بالجهاز التنفسى، يسمى حمى كيو Q fever* .

* تشير Q الى كلمة Query بمعنى شك أو استفهام ، اشارة الى عدم توفر علامـــات تشـــخيصية ممـــيزة للمـــرض ، وذلك عندما لوحظت أوائل الحالات التى تم إكتشافها من هذه الحمى باستراليا .

M2 - الكلاميديـــات : Chlamydias

الكلاميديات خلايا متطفلة إجبارا داخل خلايا العائل ، وهـــى ممرضـــة للانســـان وبعـــض الحيوانات .

وتختلف الكلاميديات عن الريكتسيات ، فى أن الكلاميديات غير قادرة على تخليـــق ATP ، وتعتمد فى ذلك على عائلها تماما ، ولذلك تسمى الكلاميديات بمتطفلات الطاقـــة Energy parasites ، كما أن الكلاميديات ذات دورة حياة خاصة مميزة لها .

وصف الكلاميديا

خلايا الكلاميديا سالبة لصبغة جرام ، غير متحركة ، متناهية فى الصغر ، كروية أو متعددة الأشكال ، وحجم الخلية يتراوح مابين ٠,٢ الى ٠,٧ ميكرومتر ، مشابهة فى ذلـــك حجـــم الفيروسات الكبيرة الحجم ، مثل فيروسات الجدرى .

وحجم جينوم الكلاميديا صغير ، (حوالى ٠,٦٦ × ١٠^٩) ، وهو يعادل تقريبـــا ربـــع حجـــم جينوم بكتريا القولون ، ومن الكلاميديا سلالات تمر من المرشحات البكتيرية .

ويمكن زراعة الكلاميديا فى المعمل فى بيض الدجاج المخصب (المحتـــوى علـــى جنيـــن الكتكوت الحى) ، أو فى مزارع نسيجية لخلايا ثدييات مثل خلايـــا هيـــلا Hela cells* ، ولاتنتقل الكلاميديا مثل الريكتسيا بواسطة المفصليات ، ولكن تنتقل بالملامســـة والاحتكـــاك وابتلاع الأتربة الملوثة .

تكاثر الكلاميديا

تتكاثر الكلاميديا بالانقسام الثنائى ، وبما يشبه التـــبرعم بـــالخميرة ، وبتكويـــن جســـيمات دقيقة . ويمر التكاثر بدورة خاصة ، تتم فى مراحل يمكن مشاهدتها بالمجهر الالكـــترونى ، كما تمر مراحل الدورة بفترة كمون Latency مشابهة فى ذلك للفيروسات .

تبدأ الدورة بتحول خلايا الكلاميديا بداخل خلية العائل ، من أجسام صغيرة ذات جدار صلـــب قادرة على العدوى ، تسمى بالأجسام الأولية Elementary bodies ، الى أجسام أكبر حجما ذات جدار مرن وغير قادر على العدوى (حوالى ٢-٣ أضعـــاف الأجســـام الصغـــيرة) ، وتسمى بالأجسام المتشابكة Reticulate bodies ، وهذه تتكاثر بالانقسام الثنـــائى لتكويـــن أجسام متشابكة جديدة .

وتكتمل دورة النمو ، عندما تتحول الأجسام الكبيرة الحجم غير المعدية تدريجيا ، الى أجسام صغيرة الحجم Elementary bodies معدية ، تخرج من خلية العائل ، لتصيب خلايا عـــائل جديد حقيقى النواة ، وتستمر الدورة .

---

* خلايا هيلا Hela cells ، خلايا شبه طلائية أخذت عام ١٩٥١ من سرطان بعنق رحم لسيدة تدعى هنريتا لاكـــس Henrietta Lacks ، وقد حفظت هذه الخلايا كمزرعة نسيجية ، ويستعمل حالياً النسل الناتج من هذه الخلايـــا فى زراعة الفيروسات .

أجناس الكلاميديات

تضم الكلاميديات جنسا واحدا ، هو جنس *Chlamydia* ، ويطلق على الأنواع التابعة لـه مجموعة PLT group ، (Psittacosis- Lymphogranuloma- Trachoma organisms) إشارة الى ماتسببه هذه الأنواع من أمراض .

من الأنواع التابعة لهذا الجنس

أ - *C. trachomatis*

يتبع هذا النوع مجموعة من السلالات السيرولوجية Serovars ، منها مايسبب مرض التراكوما بالعين Trachoma (مرض التهاب الملتحمة الحبيبى) ، وهو مرض شديد العدوى وقد يؤدى إلى العمى ، وتنتقل هذه السلالات بالاحتكاك المباشر أو بواسطة الذباب أو بواسطة الأدوات Fomites .

ومن هذا النوع أيضا سلالات سيرولوجية تسبب أمراضا جنسية ، تنتقل بالأتصال الجنسى ، منها مرض إلتهاب الحالب (الإحليل) غير السيلانى بالذكر Non-gonococcal urethritis والورم الليمفى الحبيبى الجنسى Lymphogranuloma venereum ,

ب - *C. psittaci*

هذا النوع ممرض للببغاء والطيور والحيوانات ، كما أنه يسبب للانسان حمى الببغاء Psittacosis, Parrot fever ، التى تسبب التهاباتا رئوية .

وتنتقل البكتريا بالاحتكاك ، أو باستنشاق ذرات تراب ملوثة ببراز طيور مصابة .

N - المايكوبلازمات (موليكيوتس) ، البكتريا عديمة الجدار الخلوى

Mycoplasma (Mollicutes), Cell wall-less bacteria

بكتريا بدون جدار خلوى ، أغلبها متطفل ، يمكن تنميتها بالمعمل ، أغلبها ممرض ، سالبة لصبغة جرام [جدول ٧ (٢) -٢٦] .

وتسمى مجموعة هذه البكتريا [جدول ٧ (٢)- ٢٦] بالمايكوبلازمات ، أو مجموعة الموليكيوتس ، أو البكتريا الرخوة ، وقد كانت تسمى سابقا بالبكتريا الشبيهة بتلك المسببة للإلتهاب الرئوى للغشاء البللورى ، PPLO ، Pleuropneumonia-like organisms ، لأنه عندما تم التعرف عليها لأول مرة وجدت مرتبطة بمسببات الالتهاب الرئوى .

جدول ٧ (٢) - ٢٦ : أجناس بكتيرية بدون جدار خلوى أغلبها متطفل ، ويمكن تنميتها بالمعمل ، أغلبها ممرض ، سالبة لصبغة جرام ،

مجموعة الميكوبلازمات (الموليكيوتس) .

(Group 30, Bergey's 1994)

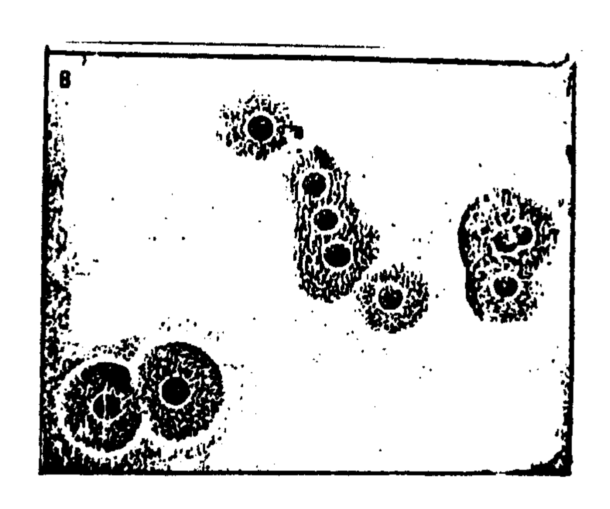
تحتاج ستيرول		لاتحتاج ستيرول	
اختيارية للهواء	لاهوائية	اختيارية للهواء	لاهوائية
Mycoplasma *Spiroplasma* *Ureaplasma*	*Anaeroplasma*	*Acholeplasma*	*Asteroleplasma*

تتميز خلايا المايكوبلازمات بعدم وجود جدار للخلية خارج الغشاء السيتوبلازمى المغلف لمحتويات الخلية ، مما يعطى لهذه الخلايا مجموعة من الميزات عن باقى مجاميع البكتريا الأخرى ، منها

* مرونة الخلايا ، بعكس البكتريا النموذجية ذات الجدار الصلب ، وتأخذ خلايا المايكوبلازمات بالتالى أشكالا متعددة بالوسط النامية به ، يتراوح مابين الكروى إلى الخيطى المتفرع [شكل ٧ (٢)- ٥٥] ، وتسمح مرونة المايكوبلازمات لخلاياها ، بالمرور من المرشحات البكتيرية ، رغم أن قطر الخلايا فى المتوسط حوالى ٠,٣ ميكرومتر .
* قابلية خلايا المايكوبلازمات للتحلل Lysis ، عندما تتعرض لصدمات ضغوط أسموزية مفاجئة ، كتلك الناتجة عن تخفيف وسط النمو المفاجىء بالماء .

- عدم تأثر خلايا المايكوبلازمات بالفاجات ، ولاتُثبَّط المايكوبلازمات بالمضادات الحيوية التى تؤثر على الجدار الخلوى كالبنسلين (لعدم وجود جدار خلوى) ، ولكن المايكوبلازمات تُثبط بالمضادات الحيوية التى تؤثر على تمثيل البروتين الخلوى ، مثل التتراسيكلينات والكلورامفينيكول .
- ولإحتواء الغشاء السيتوبلازمى لخلايا المايكوبلازمات على نسبة مرتفعة من الليبيدات، فإن كثيراً من المايكوبلازمات حساس لمذيبات الدهون ومخفضات الجذب السطحى كالإيثانول والمنظفات وأملاح الصفراء .





شكل ٧ (٢)-٥٥
خلايا ومستعمرات المايكوبلازما
A : *Mycoplasma pneumoniae* × ٢٠,٠٠٠ مجهر كاسح .
خلايا عمرها ٦ أيام تبين الأشكال المختلفة للخلايا : كروية ، خيوط ، تفرعات .
B : مستعمرات *M. molare* × ٣٠ .
لاحظ أن شكل المستعمرة كشكل البيض المقلى

علاقة المايكوبلازمات بأشكال إل البكتيرية : Mycoplasmas and L-forms*

تتشابه كلا من المايكوبلازمات وخلايا البكتريا التى من نوع إل L-forms* ، فى أن كليهما بدون جدار خلوى . ولكن عدم وجود جدار خلوى للميكوبلازمات هو صفة ثابتة للنوع ، ولايتكون الجدار عند إعادة تنمية المايكوبلازما تحت أى ظروف .

* خلايا إل L-forms ، يعود حرف إل L ، الى معهد ليستر بلندن Lister Institute ، حيث تم لأول مرة عام ١٩٣٤ عزل خلايا بكتيرية بدون جدار خلوى لسلالة من بكتريا *Streptobacillus moniliformis* .

أما خلايا البكتريا التى من نوع L-forms ، فإنها نتجت من خلايا ذات جـــدار خلــوى، ولكنها فقدت جدارها بصفة مؤقتة لسبب ما ، كوجود بنسلين فى بيئـــة النمـــو ، أو لعـــدم إحتواء البيئة على مادة Diaminopimelic acid ... أو لأى سبب اخر ، وبإعادة تنميـــة تلك الخلايا تحت ظروف مناسبة (مثل بيئة بدون بنسلين) ، فانها تعطى خلايا جديدة لـــها جدار خلوى .

صفات خلايا المايكوبلازمات المورفولوجية والمزرعية

خلايا المايكوبلازمات سالبة لصبغة جرام ، بدون جدار خلوى ، ذات أشكال متعددة مـــن الكروى الى الخيطى المتفرع ، والخلايا الكروية ذات أقطار تتراوح مـــن ١٠ الـــى ٦٠٠ نانومتر ، غير متحركة (عدا جنس سبيروبلازما) ، ومنها اللاهوائى أو الاختيارى للهواء، أو المحب للأكسجين بكمية قليلة .

وتعتبر المايكوبلازمات من أصغر أنواع البروكاريوتا حجما ، التى تعتمد على نفسها فـــى نموها وتكاثرها والتى يمكن تنميتها معمليا ، وتقع فى حدود الرؤية المجهرية الضوئية .

وتتكاثر المايكوبلازمات بالانقسام الثنائى ، أو بتجزؤ الخيوط ، أو بتكوين جسيمات دقيقـــة داخل الخلايا الناضجة ، ويمكن زراعتها فى المعمل ، فى بيئات غيرحية ، غنية ، مقـــواه بسيروم الدم ، وتحتاج بعض الأنواع خاصة الممرضة إلى وجود ســتيرولات فـــى بيئـــة النمو ، وتجرى الزراعة تحت ظروف هوائية إختياراً أو لاهوائية حسب النوع .

وتتميز المستعمرات النامية بالبيئة الصلبة ، بصغر حجمها (أقل من ١ مـــم فـــى القطـــر) وتشبه ذرات التراب بالأجار وتحتاج لعدسة مجهر ذات قوة صغرى لفحصـــها . وتوجـــد المستعمرات مطمورة تحت سطح طبقة الأجار ، وتأخذ المستعمرة شكل البيـــض المقلـــى Fried-egg ، مركزها غامق ومحيطها شفاف[شكل ٧ (٢) – ٥٥] .

من المايكوبلازمات ماهو مترمم ، الذى يوجد بينـــابيع الميـــاه ، أو بـــالمواد العضويـــة المتحللة ، ولكن أغلبـــها متطفـــل وممـــرض للانســـان والحيـــوان والنبـــات ، وتوجـــد المايكوبلازمات فى النبات بالحزم الوعائية، وفى الحيوان فإنها توجد ملتصقـــة بالأنسـجة الطلائية للأغشية المخاطية .

جينوم المايكوبلازمات : Mycoplasma genome

يعتبر جينوم المايكوبلازمات من أصغر جينومات البروكاريوتا القادرة على الحياة مســتقلة عن غيرها ، وهو يمثل جزءاً من حجم جينوم بكتريا القولون ، وحجمه مـــن ٥٠٠ الـــى ٩٠٠ كيلو قاعدة ، وصغر حجم جينوم المايكوبلازمات ، يفسر القدرات الأيضية المحدودة لتلك الخلايا ، وحاجتها فى النمو إلى بيئات غذائية غنية .

من الأجناس الهامة التابعة للميكوبلازمات

Acholeplasma -

أفراد هذا الجنس لاتحتاج فى نموها الى وجود كولسترول فى بيئة النمو ، وهى واسعة الانتشار فى خلايا الفقاريات ، وفى الأراضى ومياه المجارى وينابيع المياه .

من الأنواع التابعة *A. oculi* .

Mycoplasma -

أفراد هذا الجنس تحتاج فى نموها إلى وجود كولسترول فى بيئة النمو ، ويدخل الكولسترول فى تركيب الغشاء السيتوبلازمى للخلية .

توجد المايكوبلازما كمتطفلات بالأغشية المخاطية وأربطة المفاصل ، بالانسان والحيوان ، كما توجد كملوثات بالمزارع النسيجية .

أغلب أنواع هذا الجنس متطفل ممرض للحيوانات ومنها الممرض للإنسان .

من الأنواع التابعة *M. pneumoniae* ، وينتقل بواسطة الهواء ويسبب مرض الالتهاب اللانمطى بالانسان Primary atypical pneumonia .

ومن أنواع المايكوبلازما الأخرى المرتبطة بعوائل حيوانية *M. canis & M. hominis* .

Spiroplasma -

أفراد هذا الجنس تحتاج الى ستيرولات فى بيئة النمو ، وهى تختلف عن باقى الأجناس فى أنها أهليجية الشكل وذات حركة بريمية فى السوائل بدون أسواط ، وتشبه فى شكلها المورفولوجى الجنس البكتيرى *Spirillum* .

السبيروبلازما ممرضة لبعض النباتات ، وتسبب إصفرارها وتقزمها وتشوهات فى نمواتها، ويمكن عزلها من سطح النبات ومن العصارات النباتية التى باللحاء والأوعية الناقلة بالنبات، ومن مفصليات الأرجل التى تتغذى على النباتات،نحل العسل والنطاطات ، حيث أن المفصليات هى الناقلة للسبيروبلازما .

من الأنواع التابعة *S. citri* التى تصيب أشجار الموالح وتسبب إصفرارها وتشوهاتا فى نمواتها .

Ureaplasma -

أفراد هذا الجنس تحتاج فى نموها الى وجود يوريا وستيرولات فى بيئة النمو . وهى ممرضة ، وتسبب مرض التهاب الإحليل (مجرى البول فى الذكر) Urethritis بالانسان ، والالتهاب الرئوى Pneumonia بالأبقار .

من أنواعها *U. cati*

O - البكتريا الهوائية ذاتية التغذية كيميائية الطاقة

Aerobic chemolithotrophic bacteria

سالبة لصبغة جرام [جدول ٧ (٢) - ٢٧]

تشمل هذه البكتريا [جدول ٧ (٢) - ٢٧] ، أجناس بكتيرية سالبة لصبغة جرام ، هوائية ، ذاتية التغذية ، غير ممثلة للضوء ، تستمد طاقتها من المواد الكيميائية غير العضوية ، حيث تقوم هذه البكتريا بتثبيت CO_2 الجو ، بواسطة الطاقة المستمدة من أكسدة مواد معدنية كالأمونيا والنتريت فى حالة بكتريا النترته ، وأيونات الحديدوز والمنجنوز فى حالة بكتريا الحديد ، والمركبات الكبريتية المختزلة فى حالة بكتريا الكبريت .

وجدول [٧ (٢) - ٢٨] يوضح تلك المجموعات الفسيولوجية من البكتريا .

جدول ٧ (٢) - ٢٧ : أجناس بكتيرية عصوية أو كروية

سالبة لصبغة جرام ، هوائية ذاتية التغذية ، كيميائية الطاقة .

(Group 12, Bergey's, 1994)

ممثلة للأمونيا أو النتريت (O1)	ممثلة للحديد والمنجنيز (مؤكسدة أو مرسبة) (O2)	ممثلة للمواد الكبريتية (غير ملونة مؤكسدة للكبريت) (O3)
مؤكسدة للأمونيا [١] (Nitroso -) **Ammonia oxidizers** *Nitrosococcus* *Nitrosolobus* *Nitrosomonas* *Nitrosospira* *Nitrosovibrio*	*Leptospirillum* *Naumanniella* *Ochrobium* *Siderocapsae* [٣] *Siderococcus* *Siderocystis*	*Thiobacillus* *Thiobacterium* *Thiomicrospira* *Thiospira* *Thiovulum* *Thermothrix* خيطية *Achromatium* زاحفة [٦]
مؤكسدة للنتريت [٢] (Nitro-) **Nitrite oxidizers** *Nitrobacter* *Nitrococcus* *Nitrospina* *Nitrospira*	*Gallionella* [٤] ذات سوق مغلفة ، ذاتية التغذية اختيارا *Sphaerotilus* [٥]	

١- Nitroso - : سابقة لأسماء البكتريا المنتجة للنتريت من الأمونيا

٢- Nitro - : سابقة لأسماء البكتريا المنتجة للنترات من النتريت .

٣- Sidero - : سابقة ذات أصل إغريقى بمعنى حديد .

٤- أنظر جدول [٧ (٢) - ١٨] ، ص ٤٥٦ .

٥- أنظر جدول [٧ (٢) - ١٨] ، وتتبع السفيروتيلاس المجموعة ١٤ ، فى مرجع برجى لعام ١٩٩٤

٦ - أنظر جدول [٧ (٢) - ١٩] ، ص ٤٦٥ وتتبع الأكروماتيوم ، المجموعة ١٥ ، فى مرجع برجى لعام ١٩٩٤

جدول ٧ (٢) - ٢٨ : المجموعات الفسيولوجية للبكتريا الهوائية ذاتية التغذية ، كيميائية الطاقة .

اسم المجموعة Chemolithotrophs ذاتية التغذية ، كيميائية الطاقة	المادة القابلة للأكسدة	المادة المؤكسدة الناتجة	المستقبل النهائى للإلكترونات
مؤكسدة للأمونيا Ammonia oxidizers, Nitrosifiers	NH_3	NO_2^-	O_2
مؤكسدة للنتريت Nitrite oxidizers, Nitrifiers	NO_2^-	NO_3^-	O_2
مؤكسدة للكبريت Sulfur oxidizers	$H_2S, S, S_2O_3^{2-}$	SO_4^{2-}	CO_2 ، وأحيانا NO_3^-
مؤكسدة للحديد و/أو المنجنيز Iron and/or manganese oxidizers	Fe^{2+}, Mn^{2+}	Fe^{3+}, Mn^{4+}	O_2

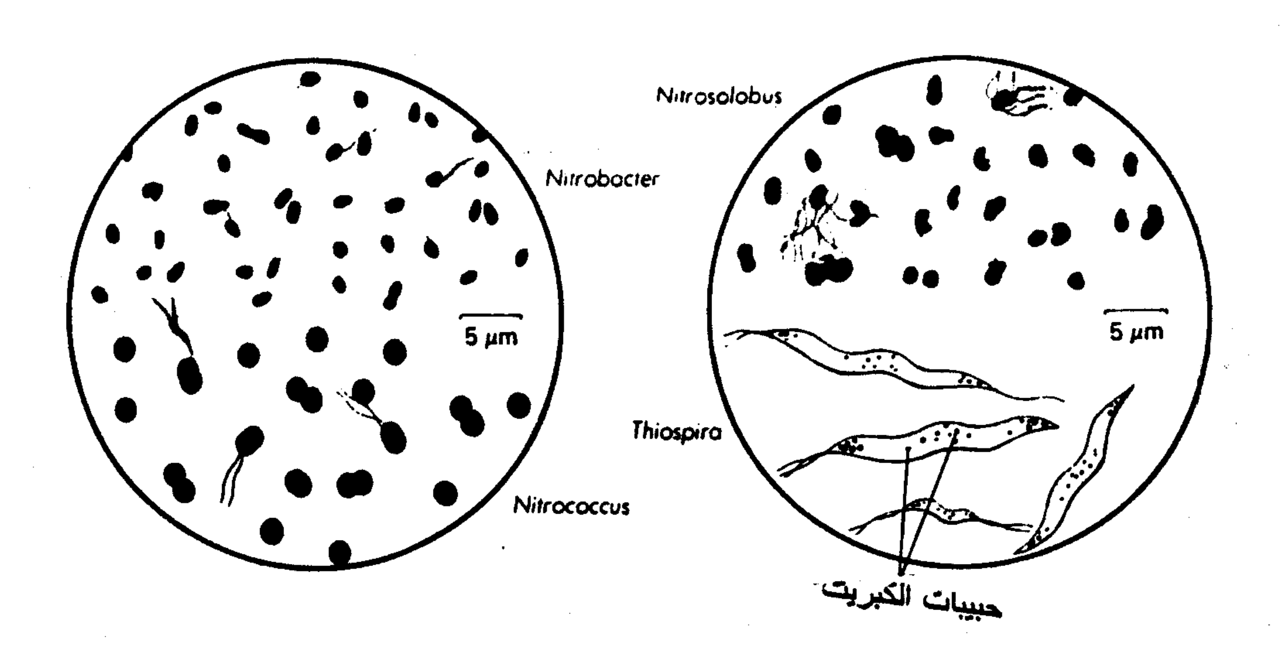
• من البكتريا الأخرى الهوائية عضوية التغذية كيميائية الطاقة Chemoorganotrophs ، التى تستخدم الإيدروجين كمصدر للطاقة ، بكتريا الإيدروجين Hydrogen bacteria ، ومنها أجناس عديدة ، وهذه البكتريا تحول H_2 الى H_2O ، والمستقبل للإلكترونات هو O_2 وأحيانا NO_3^- .

O1 - بكتريا النترتة (بكتريا التازوت) Nitrifying bacteria [جدول ٧ (٢) - ٢٧] .

تتميز هذه المجموعة البكتيرية بأنها سالبة لصبغة جرام ، هوائية ، ذاتية التغذية ، باستثناء نوع واحد خليط التغذية إختيارا ، وقادر على تمثيل المواد العضوية ، وهو *Nitrobacter winogradskyi* .

تضم بكتريا النترتة ، أجناسا بكتيرية ذات صفات مورفولوجية متباينة ، فمنها العصوى والكروى والحلزونى ، ومنها غير المتحرك ، ومنها المتحرك بأسواط تحت طرفية (قرب طرف الخلية) أو بأسواط محيطية [شكل ٧ (٢) - ٥٦] ، ويتم التكاثر بالانقسام الثنائى ، عدا *Nitrobacter winogradskyi* ، الذى يتكاثر بالتبرعم . وبكتريا النترتة بطيئة النمو نسبيا (زمن الجيل حوالى ٢٤ ساعة) ، مقارنة بالبكتريا الأخرى خليطة التغذية ، أو بالبكتريا ذاتية التغذية غير الملونة ، المؤكسدة للكبريت **ومن بكتريا النترتة أجناس** ، مثل *Nitrobacter, Nitrococcus, Nitrosococcus, Nitrosomonas* ، يكون غشاؤها السيتوبلازمى انغلافات Invaginations ، تمتد من الغشاء السيتوبلازمى للخلية الى داخل سيتوبلازم الخلية [شكل ٧ (٢) - ٥٧] . وتوجد هذه الإنغلافات متوازية ، مرتبة فى شكل صفائحى Lamellar أو أنبوبى Tubular حسب النوع .

وبكتريا النترتة واسعة الانتشار فى الطبيعة ، وتوجد فى أوساط مختلفة ، منها المياه العذبة والمحيطات والأراضى ومخلفات المجارى . وتلعب بكتريا النترتة دورا هاما فى انتاجية الأراضى الزراعية .



شكل ٧ (٢) - ٥٦ : أشكال توضح بكتريا النترتة وبكتريا أكسدة الكبريت .

تضم بكتريا النترتة ، قسمين متميزين ، من حيث طريقة حصول كل قسم منهما على الطاقة

أ - البكتريا المؤكسدة للأمونيا : Ammonia-oxidizing bacteria, Nitrosifiers

يبدأ أسماء أجناس هذه البكتريا بسابقة إغريقية هى **...Nitroso** ، وتحصل هذه البكتريا على طاقتها من أكسدة الأمونيا NH_3 الى نتريت NO_2^- ، وهى ذات أشكال مورفولوجية متعددة ، فمنها الكروى مثل ***Nitrosococcus nitrosus, N. oceanus**** ،

* توجد بالمحيطات ، وكانت تسمى سابقاً *Nitrosocystis oceanus* .

ومنها والعصوى مثل *Nitrosomonas europaea* ، ومنها الحلزونى مثل *Nitrosospira briensis* ، والمنحنى مثل *Nitrosovibrio tenuis* ، وذو الفصوص مثل *Nitrosolobus multiformis* .

ب - البكتريا المؤكسدة للنتريت : Nitrite-oxidizing bacteria, Nitrifiers

يبدأ أسماء أجناس هذه البكتريا بسابقة أغريقية هى ...Nitro ، وتحصل هذه البكتريا على طاقتها من أكسدة النتريت NO_2^- الى نترات NO_3^- . ولهذه البكتريا أيضا أشكال متعددة فمنها الكروى مثل *Nitrococcus mobilis* ، والعصوى مثل *Nitrobacter agilis* و *N. winogradskyi* ، والعصوى الطويل المستدق مثل *Nitrospina gracilis* .

ويتميز النوع *Nitrobacter winogradksyi* بأنه خليط التغذية إختياراً ، قادر على تمثيل المواد العضوية ، يتكاثر بالتبرعم ، وأن غشاءه السيتوبلازمى ذو إنغلافات صفائحية الشكل تمتد فى السيتوبلازم متوازية [شكل ٧ (٢) - ٥٧] .



شكل ٧ (٢) - ٥٧ : صورة بالمجهر الالكترونى لقطاع طولى فى بكتريا *Nitrobacter winogradskyi*، توضح إنغلافات الغشاء السيتوبلازمى المتوازية الممتدة فى شكل صفائحى بسيتوبلازم الخلية .

الخط بالشكل (Bar) ، يمثل ٠,٢٥ ميكرومتر .

O2- البكتريا المؤكسدة و/أو المرسبة للحديد والمنجنيز

Iron and manganese-oxidizing and/or depositing - Bacteria

[جدول ٧ (٢) - ٢٧]

تتميز هذه المجموعة البكتيرية بأنها سالبة لصبغة جرام ، وحيدة الخلية ، لاتكون زوائد أو سوق، قد توجد مفردة أو فى تكتلات ، هوائية إلى محبة للأكسجين بكمية قليلة ، ذاتية التغذية ، غير ممثلة للضوء ، تحصل على طاقتها من أكسدة الحديدوز Fe^{2+} الى حديديك Fe^{3+} ، ومنها مايستطيع أن يحصل على طاقته أيضا من أكسدة المنجنوز Mn^{2+} الى منجنيك Mn^{4+} ، وترسب أكاسيد الحديديك والمنجنيز خارج خليتها ، على أو فى كابسول الخلية أو بأغلفتها ، معطية للأغلفة لونا محمرا من أكاسيد الحديد أو زيتونيا من أكاسيد المنجنيز .

وهذه البكتريا غير ممرضة ، توجد فى الأراضى والمياه العذبة والمياه الراكدة ومياه الينابيع والمستنقعات ، وفى الأوساط الغنية بأملاح الحديدوز .

وهى ذات أهمية اقتصادية ، لأنها تسبب متاعب فى مواسير المياه ، كما أن ترسيبها للحديد والمنجنيز بالتربة الزراعية ، يحول هذه العناصر المعدنية الى صورة غير جاهزة لامتصاص النبات .

من الأجناس التابعة

أ - *Siderocapsa*

الخلايا كروية عصوية Cocco-bacilli (حوالى ٠,٥ × ٢,٠ ميكرومتر) ، فى تكتلات صمغية ، محاطة بكابسول يحتوى على أكاسيد الحديد والمنجنيز ، وتأخذ الكابسول لونا محمرا لوجود أكاسيد الحديد ، أو لونا زيتونيا لوجود أكاسيد المنجنيز .

ومن الأنواع التابعة للجنس *S. eusphaera* و *S. treubii* .

ب - *Siderococcus*

الخلايا كروية ، مفردة أو فى تكتلات ، وترسب بأغلفتها الخارجية أكاسيد الحديديك بكميات محسوسة .

من الأنواع التابعة للجنس *S. limoniticus* .

O3- البكتريا غير الملونة المؤكسدة للكبريت : Colourless sulfur-oxidizing bacteria
[جدولى ٧ (٢) ٢٧ و ٢٩] .

تتميز هذه البكتريا ، ومنها ماتم عزله بحالة نقية ، ومنها مالم يتم عزله بحالة نقية حتى الان ، تتميز بأنها سالبة لصبغة جرام ، هوائية (بعضها لاهوائى) ، غير ممثلة للضوء (لاتحتوى على صبغات ضوئية) ، ذاتية التغذية ، تحصل على طاقتها من أكسدة مركبات الكبريت المختزلة أو المؤكسدة جزئيا ، مثل :

الكبريتيدات Sulphides ، الكبريت ، الثيوكبريتات ، الكبريتيتات Sulphites ... ، والناتج النهائى للأكسدة هو الكبريتات SO_4^{2-} ، وقد يتراكم الكبريت بصفة مؤقتة بداخل خلايا بعض الأنواع .

والبكتريا المؤكسدة للكبريت ذات أشكال مورفولوجية متعددة ، فمنها العصوى والحلزونى، وأغلب أنواعها متحرك بأسواط طرفية ، وهى متحملة للحموضة ، حيث تعيش فى وسط حامضى ناتج من تكوينها لحامض الكبريتيك بكميات محسوسة نتيجة لأكسدتها لمركبات الكبريت المختزلة .

والبكتريا المؤكسدة للكبريت ، على خلاف بكتريا النترته ، لاتكون إنغلافات ممتدة من الغشاء السيتوبلازمى للخلية الى داخل السيتوبلازم ، كما أنها مقارنة ببكتريا النترتة ، فإنها سريعة النمو (زمن عمر الجيل للبكتريا المؤكسدة للكبريت حوالى ٢ ساعة ، مقابل حوالى ١٠ ساعة لبكتريا النتروزوموناس) .

وهذه البكتريا واسعة الانتشار فى الطبيعة ، حيث توجد فى المياه العذبة والبحرية والأراضى ومياه الصرف والمجارى ومناجم الفحم ،

[وجدول ٧ (٢) - ٢٩] يوضح مزايا بعض وأنواع هذه البكتريا .

جدول ٧ (٢) - ٢٩ : مزايا بعض أنواع البكتريا غير الملونة المؤكسدة للكبريت .

النـــوع	نوع التغذية الذاتية Autotrophy	مانح الالكترونات	ق يد النمو	ملاحظـــات
عصوى متحرك Thiobacillus[1] *Th. denitrificans*[2]	حتمى	S, $S_2O_3^{2-}$, CNS^-	٦-٨	قادر على النمو اللاهوائى واستخدام NO_3^- كمستقبـــل للإلكترونات
Th. ferrooxidans[3]	متباين	S, $S_2O_3^{2-}$, Fe^{2+}	٢-٦	
Th. intermedius	اختيارى	S, $S_2O_3^{2-}$, glutamate	٢-٦	
Th. novellus	اختيارى	S, $S_2O_3^{2-}$, glutamate	٦-٨	
Th. thiooxidans[4]	حتمى	S, $S_2O_3^{2-}$	٢-٥	ويتحمل حموضة حتى ق يد ٠,٥
Th. thioparus	حتمى	S, $S_2O_3^{2-}$, CNS^-	٦-٨	
حلزونى متحرك *Thiomicrospira*[5] *Th. pelophila*	حتمى	S, $S_2O_3^{2-}$	٦-٨	

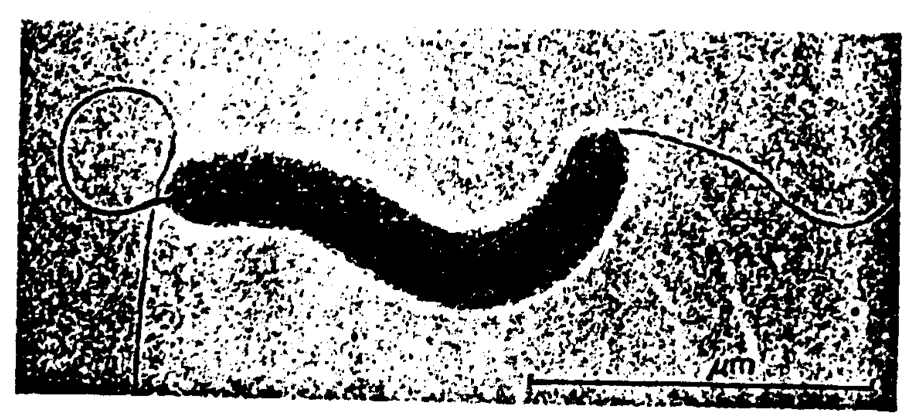
١- ...Thio سابقة إغريقية بمعنى كبريت .

٢- قادر على النمو اللاهوائى ، ويسبب إنطلاق النتروجين فى الأراضى الغدقة .

٣- كان يسمى سابقا *Ferrobacillus ferrooxidans* ، ويحصل على طاقته من أكسدة مركبات الكبريت المختزلة ، وأيضا من أكسدة أيونات الحديدوز .

٤- من أكثر أنواع البكتريا تحملا للحموضة العالية ، لأنه يكون حامض كبريتيك بكميات كبيرة بالوسط

٥ - أنظر [شكل ٧ (٢) - ٥٨] .

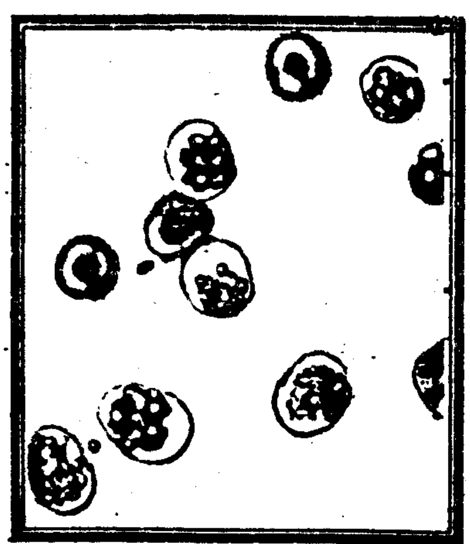


شكل ٧ (٢) - ٥٨ : *Thiomicrospira pelophila*
بكتريا غير ملونة ، مؤكسدة للكبريت ، حلزونية ، ذات سوط طرفى بكل قطب من أقطاب الخلية
صورة بالمجهر الالكترونى .

هناك أجناس من البكتريا غير الملونة المؤكسدة للكبريت ، لم يتم عزلها بحالة نقية حتى الآن ، وذلك بسبب وجود صعوبات فى تقنية التنمية الهوائية فى وجود H_2S ، ولكن تم التعرف على هذه الأجناس ومعرفة خواصها وهى فى بيئاتها الطبيعية ، وهى تتميز بأنها سالبة لصبغة جرام ، هوائية ، ذاتية التغذية ، تؤكسد المركبات الكبريتية المختزلة مثل H_2S الى SO_4^{2-} ، وتجمع حبيبات الكبريت بداخل خلاياها [أنظر شكل ٧ (٢)- ٥٦] ، وتوجد فى المياه العذبة والبحرية وينابيع المياه المحتوية على H_2S .

من الأجناس التابعة لهذه المجموعة

Achromatium : وحيدة الخلية ، عملاقة الحجم ، زاحفة [أنظر شكل ٧ (٢) -٥١] .
Thiobacterium : الخلايا عصوية غير متحركة .
Thiospira : الخلايا حلزونية متحركة بسوط طرفى [شكل ٧ (٢) - ٥٦] .
Thiovulum : الخلايا بيضاوية متحركة بأسواط محيطية [شكل ٧ (٢)- ٥٩] .



شكل ٧ (٢) - ٥٩ : *Thiovulum* × ٧٠٠
بكتريا غير ملونة مؤكسدة للكبريت بيضاوية ، كبيرة الحجم ، تجمع الكبريت بداخلها .
(لاتظهر الأسواط بالصورة)

P - البكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين

Anoxygenic phototrophic bacteria

سالبة لصبغة جرام ، لاهوائية ، ذاتية (أو عضوية) التغذية [جدول ٧ (٢)-٣٠] .

تشمل هذه البكتريا [جدول ٧ (٢) - ٣٠] أجناس بكتيرية وحيدة الخلية ، كروية أو عصوية أو حلزونية أو خيطية ، سالبة لصبغة جرام ، لاهوائية (لأن وجود الأكسجين يثبط من عملية تخليق صبغاتها الضوئية) .

جدول ٧ (٢)- ٣٠ : أجناس بكتيرية سالبة لصبغة جرام
لاهوائية ، ذاتية (أو عضوية) التغذية ، ممثلة للضوء ، غير منتجة للأكسجين
كروية أو عصوية أو حلزونية أو خيطية

. (Group 10, Bergey's, 1994)

بكتريا خضراء Green P2		بكتريا أرجوانية Purple P1	
ب - غير كبريتية•	أ - كبريتية	ب - غير كبريتية•	أ - كبريتية
Chloroflexus (خيطية زاحفة)	*Ancalochloris*	*Rhodobacter*	*Chromatium*
	Chlorobium	*Rhodocyclus*	*Ectothiorhodospira*
	Chloroherpeton	*Rhodomicrobium*	*Lamprobacter*
	Chloronema	*Rhodopila*	*Lamprocystis*
	Oscillochloris	*Rhodopseudomonas*	*Thiocapsa*
	Pelodictyon	*Rhodospirillum*	*Thiocystis*
	Prosthecochloris		*Thiodictyon*
			Thiopedia
			Thiosarcina
			Thiospirillum

• غير كبريتية ، أى غير قادرة على استخدام H_2S كمانح للإيدروجين ، ولاتخزن الكبريت بداخل خلاياها .

تحتوى هذه البكتريا على صبغة الكلوروفيل البكتيرى Bacteriochlorophyll, Bchl ، فهى خلايا ممثلة للضوء تستخدمه كمصدر للطاقة ، لإختزال CO_2 فى وجود مواد مانحة للإلكترونات مثل الإيدروجين وكبريتيد الايدروجين وبعض الأحماض العضوية ، لأنها غير قادرة على استخدام الماء ، كمانح للإلكترونات ، كما فى حالة النباتات الخضراء .

كما تحتوى هذه البكتريا كذلك على مجموعة من الصبغات الكاروتينويدية القابلة للذوبان فى الماء ، ويطلق على الكاروتينويدات الصبغات المساعدة Accessory pigments ، فهى تمتص الضوء عند مدى طيفى يتراوح مابين ٤٠٠ الى ٥٠٠ نانومتر ، وبذلك تساعد فى إمتصاص الطاقة الضوئية ونقلها الى الكلوروفيل البكتيرى ، كما أن الكاروتينويدات تحمى الكلوروفيل من التلف الذى قد يتعرض له نتيجة الأكسدة الضوئية ، ولاتنتج خلايا هذه البكتريا أكسجيناً أثناء تمثيلها الضوئى .

وهناك مجموعة أخرى من البكتريا ، مختلفة عما سبق فى بعض صفاتها ، ولكنها تتبع البكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين تسمى Heliobacteria .

من هذه البكتريا

* أنواع زاحفة ، تتبع جنس *Heliobacterium* .
* أنواع متحركة كبيرة الحجم حلزونية الشكل ، تتبع جنس *Heliospirillum* .
* أنواع متحركة عصوية الشكل ، تتبع جنس *Heliobacillus* .

عموماً ، تعتبر البكتريا الممثلة للضوء اللاهوائية غير المنتجة للأكسجين ، أكثر بدائية وأسبق فى الظهور فى سلسلة التطور ، عن البكتريا الممثلة للضوء المنتجة للأكسجين (السيانوبكتريا) ، حيث أيدت الشواهد الجيولوجية والحفرية ، أن الغلاف الجوى فى بداية الخلق ، منذ أكثر من ٣ مليار سنة مضت ، كان خاليا من الأكسجين ، وكان هذا الوسط يناسب نمو البكتريا الممثلة للضوء اللاهوائية ، ولم يتكون الأكسجين بكميات محسوسة ، ويتحول الغلاف الجوى من لاهوائى إلى هوائى ، حتى نشأت منذ حوالى ١,٥ مليار سنة البكتريا الممثلة للضوء المنتجة للأكسجين .

التمثيل الضوئى البكتيرى والنباتى *

يختلف الكلوروفيل البكتيرى الخاص بخلايا البكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للاكسجين ، عن كلوروفيل النبات والسيانوبكتريا ، فى تركيبه الكيميائى (من حيث الروابط الزوجية والمجموعات الاستبدالية التى تقع على ذرات الكربون فى النظام الحلقى للبورفرين بجزىء الكلوروفيل ، ومن حيث خواصه فى إمتصاص الموجات الضوئية [شكل ٧(٢)-٦٠] .

Pigment	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5	R^6	R^7
Chloro-Phyll a	$-CH=CH_2$	$-CH_3$	$-CH_2-CH_3$	$-CH_3$	$O=C(OCH_3)-$	Phytol	$-H$
Bacterio-chlorophyll a	$O=C(CH_3)-$	$-CH_3$*	$-CH_2-CH_3$*	$-CH_3$	$O=C(OCH_3)-$	Phytol or Geranyl-geraniol	$-H$
Bacterio-chlorophyll b	$O=C(CH_3)-$	$-CH_3$*	$=C(CH_3^*)(H)$	$-CH_3$	$O=C(OCH_3)-$	Phytol	$-H$
Bacterio-chlorophyll c	$-CH(OH)-CH_3$	$-CH_3$	$-C_2H_5$ $-C_3H_7$ $-i\text{-}C_4H_9$	$-C_2H_5$ $-CH_3$	$O=C(OCH_3)-$	Farnesol	$-CH_3$
Bacterio-chlorophyll d	$-CH(OH)-CH_3$	$-CH_3$	$-C_2H_5$ $-C_3H_7$ $-i\text{-}C_4H_9$	$-C_2H_5$ $-CH_3$	$-H$	Farnesol	$-H$
Bacterio-chlorophyll e	$-CH(OH)-CH_3$	$-CHO$	$-C_2H_5$ $-C_3H_7$ $-i\text{-}C_4H_9$	$-C_2H_5$	$-H$	Farnesol	$-CH_3$
Bacterio-chlorophyll g	$-CH=CH_2$	$-CH_3$	$=C(CH_3)(H)$	$-CH_3$	$-H$	Phytol	$-H$

شكل ٧ (٢)-٦٠ : أنواع الكلوروفيل المختلفة .

يعود الاختلاف بين الأنواع المختلفة أساسا ، إلى وجود أو عدم وجود روابط زوجية بين ذرة الكربون ٣ وذرة الكربون ٤ ، وإلى المجموعات الاستبدالية (R) على هيكل البورفرين .

لاحظ العلاقة بين كلوروفيل a ، والبكتريوكلوروفيل a, b, c, d, e & g .

---

* راجع التمثيل الضوئى البكتيرى بالفصل السادس من الباب العاشر ، ص ٨٢٥ ومايليها .

فالكلوروفيل البكتيرى ستة أنواع (Bchl a, b, c, d, e & g) ، تمتص الموجات الضوئية التى تقع فى المنطقة تحت الحمراء بمجال الطيف الالكترومغناطيسى ، التى يتراوح أطوال موجاتها من ٧٢٥ الى ١٠٣٥ نانومتر .

بينما نجد أن كلوروفيل النبات والسيانوبكتريا ، هو من نوع كلوروفيل أ ، ويمتص الموجات الضوئية الأقصر ، ذات الطول الموجى حوالى ٦٨٠ نانومتر ، مما يوفر طاقة أكبر للتفاعلات الضوئية . وتضم الصبغات الضوئية النباتية الكاروتينويدات والفايكوبليبروتينات Phycobiliproteins .

الفروق الموجودة بين أنواع الكلوروفيل فى قدراتها على إمتصاص الموجات الضوئية ، بين كل من النبات والسيانوبكتريا من ناحية ، وبين البكتريا غير المنتجة للأكسجين الأرجوانية والخضراء من ناحية أخرى ، تعنى أن كل نوع من أنواع هذه الكائنات ، قادر على استخدام موجات ضوئية مختلفة عن الآخر فى عملية التمثيل الضوئى ، تناسب معيشته ، ولهذه الفروق صلة بظروف الإضاءة المتوافرة فى أماكن الاستيطان الطبيعية التى تعيش بها تلك الكائنات ، ويمكن مختبريا الاستفادة من هذه الفروق فى الامتصاص الضوئى ، فى تقنيات الزراعة الانتقائية لتنمية الأنواع المختلفة من البكتريا الممثلة للضوء .

وتتبع البكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين فى تمثيلها الضوئى ، نظام الفسفرة الحلقية * Cyclic phosphorylaltion ، لإحتواء خلاياها على صبغات النظام الضوئى رقم ١ فقط ، Pigments of photosystem I ، وهى صبغات تنتج $NADPH^+$ ، ولاتنتج O_2 .

أما النبات والسيانوبكتريا ، فانها تتبع فى نظامها الضوئى ، نظام الفسفرة غير الحلقية Non cyclic (Acyclic) phosphorylation* ، لاحتواء خلاياها على صبغات النظام الضوئى رقم ١ ، ورقم ٢ .

وصبغات النظام الضوئى رقم ٢ Pigments of photosystem II ، صبغات قادرة على شطر جزىء الماء وإنتاج O_2 ، مع تكوين قدرة إختزالية ترتبط مع صبغات النظام الضوئى رقم I بالخلية ، لاستكمال عملية التمثيل الضوئى .

* راجع التمثيل الضوئى البكتيرى بالفصل السادس من الباب العاشر .

وجدول [٧ (٢)- ٣١] يوضح أهم فروقات خصائص التمثيل الضوئي بين خلايا الكائنات الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين (البكتريا) ، وتلك المنتجة للأكسجين (كالسيانوبكتريا والنبات)* .

جدول ٧ (٢)- ٣١ : أهم فروقات خصائص التمثيل الضوئي بين الكائنات غير المنتجة للأكسجين (البكتريا) ، والكائنات المنتجة للأكسجين (السيانوبكتريا والنبات) .

الخاصيـــــة	البكتريا غير المنتجة للأكسجين	الكائنات المنتجة للأكسجين (السيانوبكتريا والنبات)
الاحتياج الأكسجيني للتمثيل الضوئي	لاهوائى	هوائـــى
موقع الصبغات الضوئية بالخلية	الغشاء السيتوبلازمى والسيتوبلازم	• البلاستيدات بالنبات • الغشاء السيتوبلازمى والسيتوبلازم بالسيانوبكتريا
المادة المانحة للإلكترونات	H_2S, H_2 ، أحماض عضوية	H_2O
انتاج الأكسجين	غير منتجة	منتجة
الطاقة اللازمة للتفاعل الضوئي	قليلة	كبيرة
نوع الصبغات الضوئية	• كلوروفيل بكتيرى من نوع a,b,c,d,e,g • تحتوى على كاروتينويدات • تحتوى على صبغات النظام الضوئي رقم ١ فقط	• كلوروفيل نباتي من نوع a • تحتوى على كاروتينويدات وفايكوبليبروتين • تحتوى على صبغات النظام الضوئي رقم ١ ورقم ٢
أطوال الموجات الضوئية الممتصة	من ٧٢٥ الى ١٠٣٥ نانومتر	حوالي ٦٨٠ نانومتر
نظام الفسفرة	حلقي	غير حلقي

* وأنظر جدول [١٦ (١) - ١] ص ١١٠٢ .

نظام تخليق الصبغات الضوئية

تعتمد عملية تخليق الصبغات الضوئية بالخلايا البكتيرية غير المنتجة للأكسجين ، على ظروف النمو الخاصة بتلك البكتريا ، مثل درجة الحرارة ، وشدة الإضاءة ، ومدى توفر الأكسجين للبكتريا الهوائية والاختيارية ، حيث يزداد محتوى الخلايا من الصبغات ، بانخفاض شدة الاضاءة أثناء النمو ، كما يلعب الأكسجين دورا فى تكوين الصبغات ، حيث يؤدى توفر الأكسجين مع الاضاءة الشديدة ، الى كبح تكوين الصبغات الموجودة فى تراكيب غشائية ، وبالتالى إلى توقف تخليق الكلوروفيل البكتيرى والكاروتينويدات ، كما يلعب الأكسجين دورا مثبطا لبعض التفاعلات الانزيمية الخاصة بتخليق الكلوروفيل البكتيرى .

ويتم الحصول على أعلى تركيزات من الصبغات الضوئية الموجودة فى حويصلات Vesicles أو أنيبيات Tubules ، فى الخلايا التى سبق تنميتها تحت ظروف لاهوائية وإضاءة منخفضة .

تواجد البكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين وتثبيت النتروجين

تتواجد هذه البكتريا فى الأوساط المائية اللاهوائية ، العذبة والبحرية ، كما تتواجد فى الطبقات السفلى من سطح المياه الضحلة ، مثل المياه الراكدة ومياه المستنقعات الملحية ، وفى قاع البحيرات .

وفى مناطق المياه العميقة ، ينفذ الضوء الأزرق لمسافات أعمق من الضوء الأحمر ، لذلك فإن كلوروفيل وكاروتينويدات البكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين الموجودة بتلك الأعماق ، يستطيع أن يمتص بعض الموجات الضوئية ذات الطول من ٤٠٠ الى ٤٥٠ نانومتر ، التى تقع فى المنطقة الزرقاء والخضراء من مجال الطيف الإلكترومغناطيسى ، مما يمكن هذه الخلايا البكتيرية من القيام فى تلك الأعماق البعيدة من المياه ، بعملية التمثيل الضوئى .

وكثير من أجناس البكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين ، قادر على تثبيت نتروجين الهواء الجوى لاهوائيا فى وجود الضوء ، لأن التمثيل الضوئى يوفر ATP اللازم لانزيم النتروجينيز الذى يقوم بتثبيت النتروجين الجوى .

ألوان وأقسام وحركة البكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين

تعود ألوان هذه البكتريا ، إلى ماتحتويه خلاياها من صبغات كاروتينويدية (محمرة اللون) ، وصبغات كلوروفيلية (خضراء اللون) .

وعلى أساس ماتحتويه هذه الخلايا من صبغات ، وماتختص به من الصفات الفسيولوجية الأخرى ، تقسم البكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين إلى قسمين كبيرين [جدول ٧ (٢) – ٣٠] ، هما البكتريا الممثلة للضوء الأرجوانية ، والبكتريا الممثلة للضوء الخضراء .

وفى هذين القسمين من البكتريا (الأرجوانية والخضراء) ، فإن حركة الخلايا إن وجدت ، تكون بأسواط طرفية ، عدا جنس *Chloroflexus* فانه خيطى عديم الأسواط ، وحركته زاحفة .

P1 – البكتريا الممثلة للضوء الأرجوانية : Purple phototrophic bacteria

تحتوى خلايا البكتريا الأرجوانية [جدولى ٧ (٢) ٣٠ و ٣٢] ، على بكتريوفيل أ أو ب ، وتوجد الصبغات الضوئية والكاروتينويدات فى الغشاء السيتوبلازمى للخلية ، الذى يمتد ويكون إنغلافات بالسيتوبلازم ، يبدو كحويصلات [شكلى (٧ (٢) – ٦١ و ٦٢] ومزارع هذه البكتريا أرجوانية اللون ، وهى بكتريا قادرة على استخدام H_2S كمانح للايدروجين .

ومعظم خلايا البكتريا الأرجوانية متحركة بأسواط ، وأغلبها لاهوائى ، وبعض الأنواع يكون فجواتاً غازية بداخل الخلايا ، وهى تتكاثر أساسا بالأنقسام الثنائى ، وقليل منها يتكاثر بالتبرعم ، وبعضها يحتاج الى وجود عوامل نمو بالبيئة ، مثل البيوتين ، الثيامين ، النياسين ، وفيتامين ب١٢ .

من البكتريا الأرجوانية مايستخدم H_2S كمانح للايدروجين ، وتسمى بكتريا أرجوانية كبريتية Purple sulfur bacteria ، ومثلها البكتريا التابعة لفصيلة Chromatiaceae .

ومن البكتريا الأرجوانية مالايستطيع استخدام H_2S كمانح للايدروجين ، وتسمى بكتريا ارجوانية غير كبريتية ، Purple non-sulfur bacteria ، ومثلها البكتريا التابعة لفصيلة Rhodospirillaceae .

ولذلك فإن البكتريا الممثلة للضوء الأرجوانية ، تضم فصيلتين ، هما

أ – Chromatiaceae : أرجوانية كبريتية .

ب – Rhodospirillaceae : أرجوانية غير كبريتية .

خلايا عادية

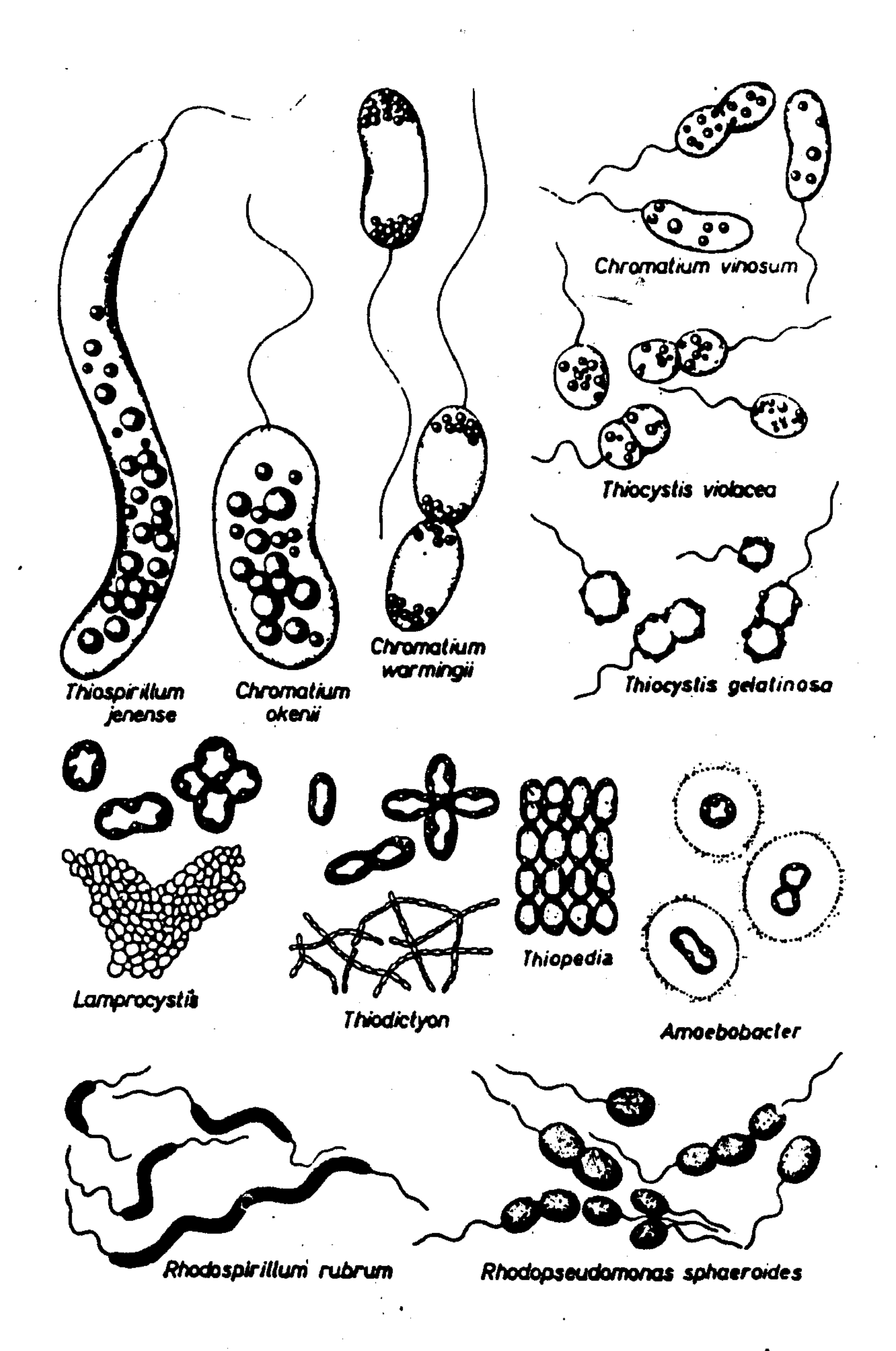
سفيروبلاست

شكل ٧ (٢)- ٦١

بكتريا أرجوانية غير كبريتية *Rhodospirillum rubrum*

صورة بالمجهر الالكترونى × ١٢٠٠٠

- لاحظ الحويصلات الصغيرة المحتوية على الصبغات الضوئية .
- المساحات الكبيرة البيضاء ، هى حبيبات بولى بيتا هيدروكسى بيوتيرات .



شكل ٧ (٢)- ٦٢ : أشكال بعض أنواع البكتريا الأرجوانية الكبريتية التابعة لفصيلة Chromatiaceae والبكتريا الأرجوانية غير الكبريتية التابعة لفصيلة Rhodospirillaceae .

جدول ٧ (٢)-٣٢ : بعض الخواص السيتولوجية والفسيولوجية للبكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين .

الفصيلة والجنس (١)	النمو		أكسدة H_2S	ترسيب الكبريت	البكتريوكلوروفيل	
	لاهوائى فى الضوء	هوائى فى الظلام			نوعه	موقعه بالخلية
أرجوانية كبريتية Chromatiaceae	+	−	+	بداخل الخلية	أ أو ب	الثيلاكويد (٢)
أرجوانية غير كبريتية Rhodospirillaceae	+	البعض +	− أو + فى البعض	خارج الخلية	أ أو ب	الثيلاكويد
خضراء كبريتية Chlorobiaceae	+	−	+	خارج الخلية	أ (بكمية قليلة) مع ج، أو د أو هـ كمكون أساسى	الغشاء السيتوبلازمى الكلوروسوم (٣)
خضراء غير كبريتية Chloroflexaceae	+	+	البعض +	لاترسب	أ (بكمية قليلة) مع ج ، كمكون أساسى	الغشاء السيتوبلازمى الكلوروسوم

(١) كل الخلايا تحتوى على صبغات النظام الضوئى رقم ١ ، ولاتحتوى على صبغات النظام الضوئى رقم ٢ .

(٢) الثيلاكويدات *Thylakoids* :
إمتدادات غشائية من الغشاء السيتوبلازمى الى داخل السيتوبلازم ، توجد كحويصلات أو كأنابيب أو كصفائح (حسب النوع البكتيرى) ، وترتبط بها الصبغات الضوئية .

(٣) الجسيمات الخضراء (الكلوروسومات) *Chlorosomes* :
جسيمات خلوية دقيقة (حوالى ٥٠ نانومتر عرض × ١٥٠ نانومتر طول) ، وهى ملاصقة للغشاء السيتوبلازمى ، وتضم الصبغات الضوئية .
وكانت الكلوروسومات تسمى سابقا حويصلات الكلوروبيام Chlorobium vesicles .

- فصيلة **Family Chromatiaceae (Formely, Thiorhodaceeae)**

تضم هذه الفصيلة ، أجناس البكتريا الأرجوانية الكبريتية Purple sulfur bacteria [جدول ٧ (٢)-٣٠] ، ومزارع هذه البكتريا أرجوانية اللون ، قادرة على استخدام H_2S كمانح للايدروجين .

جدول [٧ (٢)- ٣٣] وشكل [٧ (٢) - ٦٣] يوضحان مزايا بعض أجناس البكتريا الأرجوانية الكبريتية ، ويلاحظ أن خلايا هذه البكتريا متعددة الأشكال ، فمنها

الكروى مثل *Thiocystis violacea*

والعصوى مثل *Chromatium okenii & Thiodictyon elegans*

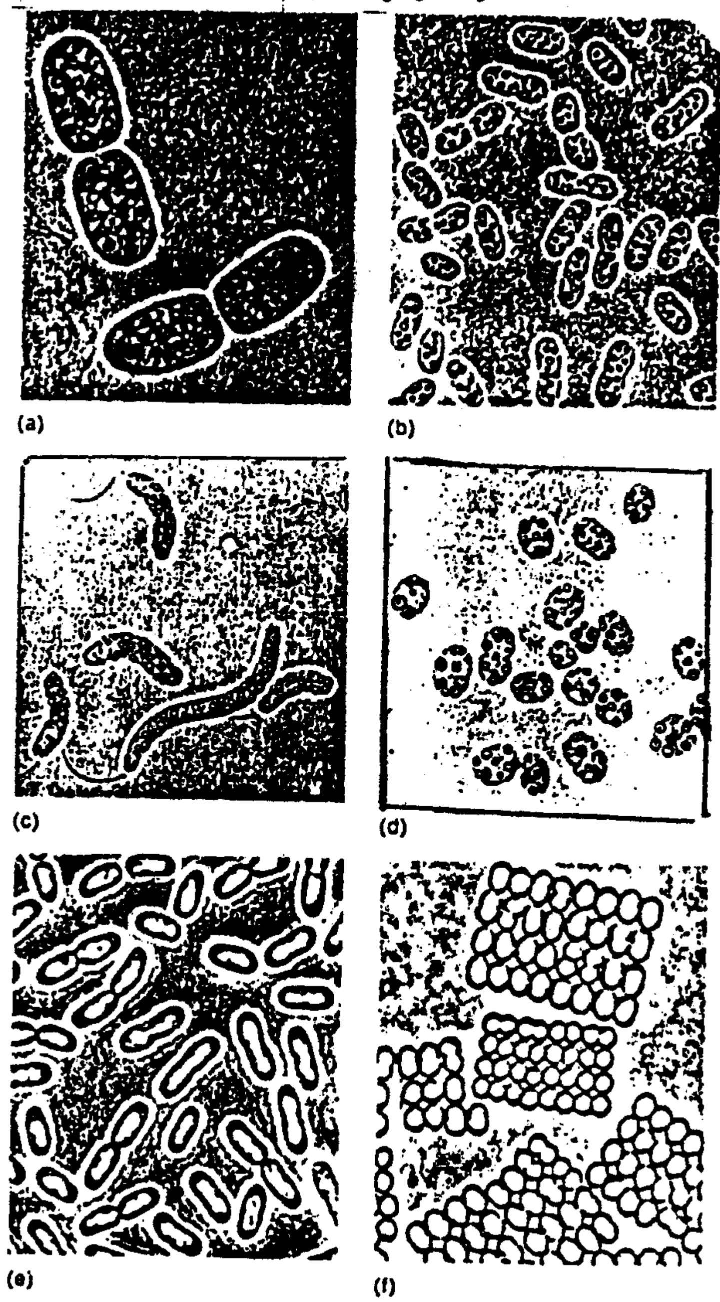
والحلزونى مثل *Thiospirillum jenense*

وقد تتجمع الكرويات في مجاميع كما في جنس *Lamprocystis* ، أو في مكعبات كما في جنس *Thiosarcina* ، أو في صفائح مسطحة كما في جنس *Thiopedia* .

جدول ٧ (٢) - ٣٣ : مميزات بعض أجناس البكتريا الأرجوانية الكبريتية .

الجنس	شكل الخلية	الحركة	وجود فجوات غازية
Chromatium	عصوى	+	−
Ectothiorhodospira	واوى	+	−
Lamprocystis	كروى فى تجمعات	+	+
Thiocapsa	كروى	−	−
Thiocystis	كروى	+	−
Thiodictyon	عصوى	−	+
Thiopedia	كروى فى صفائح مسطحة	−	+
Thiosarcina	كروى فى مكعبات	+	−
Thiospirillum	حلزونى	+	−

• كل الأجناس ترسب الكبريت بداخل خلاياها ، عدا جنس *Ectothiorhodospira* .



شكل ٧ (٢)- ٦٣ : نماذج لبعض أنواع البكتريا الأرجوانية الكبريتية × ١٤٠٠

a : *Chromatium okenii* : عصوية عملاقة ، قطرها حوالى ٥ ميكرومتر ، طولها حوالى ٢٠ ميكرومتر .

b : *Chromatium vinosum*

c : *Thiospirillum jenense* : حلزونية عملاقة قطرها حوالى ٣,٥ ميكرومتر ، وطولها حوالى ٥٠ ميكرومتر

d : *Thiocystis gelatinosa*

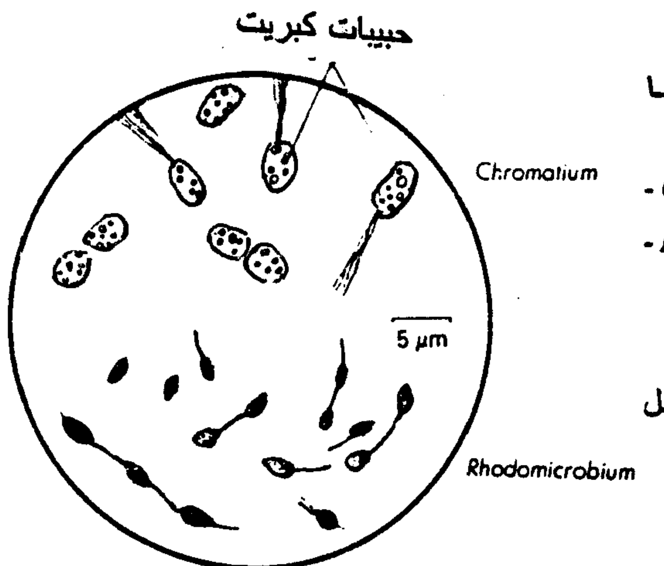
e : *Thiodictyon elegans*

f : *Thiopedia rosea*

لاحظ

- حبيبات الكبريت بداخل خلايا الأنواع من a الى d .
- وجود فجوات غازية فى f .
- وجود مساحات لامعة بداخل الخلايا e .

كل أجناس البكتريا الأرجوانية الكبريتية ، قادرة على استخدام H_2S و S ، كمانح للإلكترونات لتثبيت CO_2 . وعندما يكون H_2S هو المانح للالكترونات ، فإن حبيبات الكبريت الناتجة من أكسدة H_2S ، عادة ماتترسب بداخل الخلايا [شكل ٧ (٢)-٦٤] .



شكل ٧ (٢)- ٦٤ : رسوم توضح خلايا بكتريا أرجوانية

- *Chromatium* (Family Chromatiaceae)
- *Rhodomicrobium* (Family Rhodospirillaceae)

لاحظ حبيبات الكبريت بداخل بكتريا الكروماتيوم

بعض أنواع البكتريا الأرجوانية الكبريتية ، ممثلة للضوء ، عضوية التغذية Photoorganotroph ، حيث أنها تكون قادرة على استخدام الضوء كمصدر للطاقة ، مع استخدام الكربون العضوى ، كالخلات ، فى التغذية ، كمصدر وحيد للكربون أو بالأشتراك مع CO_2 ، وفى حالة استخدام الكربون العضوى ، فإن المادة المختزلة غير العضوية ، تصبح غير ضرورية لتلك البكتريا .

جنس *Ectothiorhodospira*

من أجناس البكتريا الأرجوانية الكبريتية ، وهو يُجمِّع الكبريت خارج خلاياه ، ثم يمتص الكبريت عند الحاجة ، لأكسدته إلى SO_4^{2-} .

وتتجمع الصبغات الضوئية فى خلايا هذه البكتريا ، فى ثايلاكويدات أنبوبية .

من الأنواع التابعة *E. halophila, E. mobilis*

ب - فصيلة (Family Rhodospirillaceae (Formerly, Athiorhodaceae

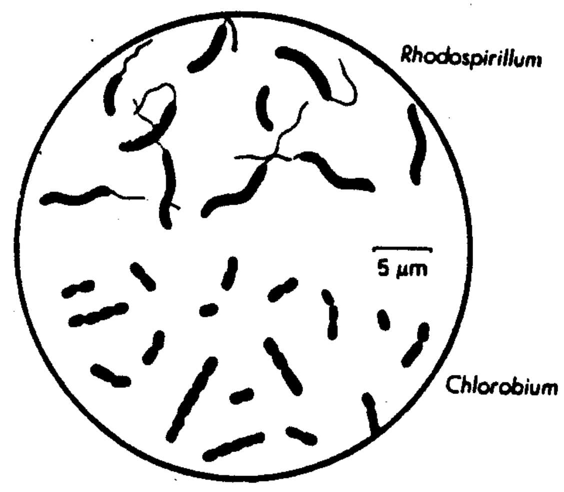
تضم هذه الفصيلة أجناس البكتريا الأرجوانية غير الكبريتية Purple non-sulfur bacteria [جدول ٧ (٢)- ٣٠] . وأغلب مزارع هذه البكتريا أرجوانية اللون ، وبعضها أخضر اللون ، وهى غير قادرة على استخدام H_2S كمانح للأيدروجين .

وبصفة عامة فإن خلايا هذه البكتريا متحركة بأسواط ، لاتكون فجواتا غازية ، ولاترسب الكبريت بداخل خلاياها ولكن ترسبه بخارجها ، ويحتاج معظمها فى نموه لوجود عوامل نمو بالبيئة ، مثل البيوتين ، الثيامين ، النياسين .

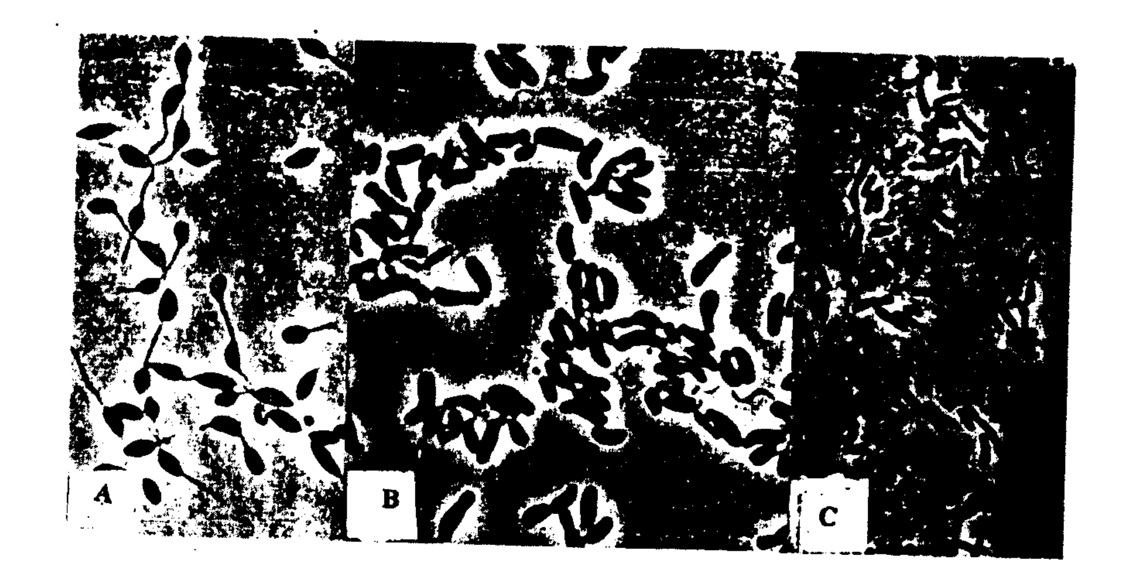
وأشكال [(٧)(٢) ٦٥ و ٦٦ و ٦٧] توضح أشكال بعض أنواع هذه البكتريا .

خلايا بكتريا هذه الفصيلة متعددة الأشكال

- فقد تكون حلزونية ، تتكاثر بالانقسام الثنائى ، وتتحرك بسوط طرفى ، مثل تلك التابعة لجنس *Rhodospirillum* .
- أو تكون عصوية بدون زوائد Non-prosthecated ، تتحرك بسوط طرفى ، مثل تلك التابعة لجنس *Rhodopseudomonas* ، وأغلب أنواع هذا الجنس تتكاثر بالإنقسام الثنائى ، وبعض أنواعه تتكاثر بالتبرعم .
- أو تكون الخلايا بيضاوية الشكل ، بدون زوائد ، تتحرك بأسواط محيطية ، وتتكاثر بالتبرعم ويتكون البرعم فى طرف الزائدة ، مثل تلك التابعة لجنس *Rhodomicrobium* .
- أو تكون الخلايا عصوية منحنية كما فى النوع *Rhodocyclus tenuis* ، أو كروية كما فى النوع *Rhodopila globiformis* .



شكل ٧ (٢)- ٦٥ : رسم يبين أشكال أجناس البكتريا الأرجوانية *Rhodospirillum* والخضراء *Chlorobium* .



شكل ٧ (٢)- ٦٦ :

A : *Rhodomicrobium vannielii*
الخلايا متبرعمة ، ذات زوائد ، ويوجد البرعم فى طرف الزائدة .

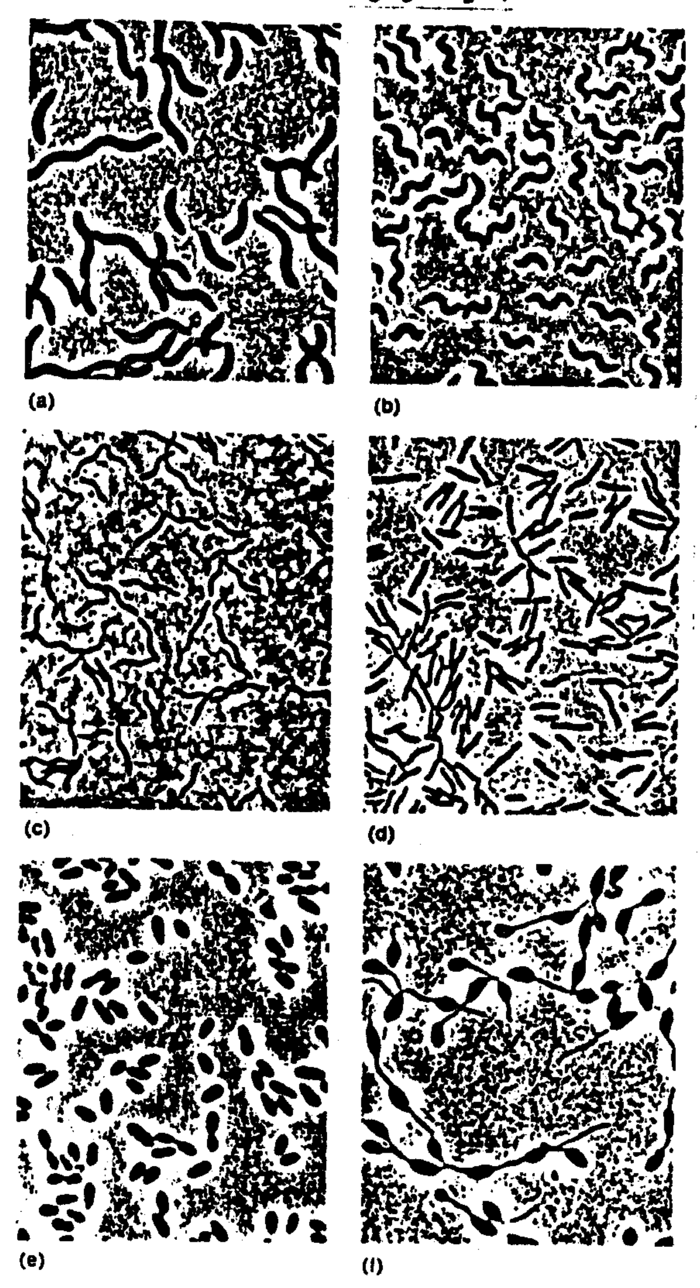
B : *Rhodopseudomonas acidophila*
الخلايا متبرعمة ، ولاتكون زوائد ، لاحظ الأسواط الطرفية فى بعض الخلايا .

C : *Rhodopsdueomonas palustris*
والخلايا متبرعمة ، ولاتكون زوائد ، وهى أرفع من خلايا B .

أغلب أنواع البكتريا الأرجوانية غير الكبريتية ، ممثلة للضوء ، عضوية التغذية Photo-organotrophs ، حيث أنها قادرة على استخدام الضوء كمصدر للطاقة ، مع استخدام المادة العضوية كمصدر للكربون وكمانح للإلكترونات لإختزال CO_2 . وبعضا من هذه البكتريا ممثل للضوء ، ذاتى التغذية ، يستخدم H_2S كمانح للإلكترونات .

ويتم التمثيل الضوئى فى وجود الضوء تحت ظروف لاهوائية فقط ، لأن وجود الأكسجين يثبط تخليق الصبغات الضوئية بالخلية ، وبعض الأنواع يستطيع النمو فى الظلام تحت ظروف هوائية ، مع استخدام مصادر متعددة من المادة العضوية فى التغذية .

البكتريا الأرجوانية غير الكبريتية



شكل ٧ (٢) – ٦٧ : أشكال لبعض أنواع البكتريا الأرجوانية غير الكبريتية × ١٢٠٠ .

a : *Rhodospirillum rubrum*
b : *Rhodospirillum fulvum*
c : *Rhodospirillum tenue*
d : *Rhodopseudomonas gelatinosa*
e : *Rhodopseudomonas sphaeroides*
f : *Rhodomicrobium vannielii*

P2- البكتريا الممثلة للضوء الخضراء : Green phototrophic bacteria

تحتوى خلايا البكتريا الخضراء [جدولى ٧ - (٢) - ٣٠ و ٣٢] ، على بكتريوكلوروفيل جـ أو د أو هـ كمكون أساسى ، مع كميات قليلة من بكتريوكلوروفيل أ . وتوجد أغلب الصبغات الضوئية (بكتريوكلوروفيل جـ أو د أو هـ) فى جسيمات خلوية دقيقة ، حوالى ٥٠ نانومتر عرض × ١٥٠ نانومتر طول ، ملاصقة للغشاء السيتوبلازمى للخلية ، تعرف بالكلوروسومات Chlolrosomes (الجسيمات الخضراء) ، وكانت تعرف سابقا بأسم حويصلات الكلوروبيام Chlorobium vesicles ، كما يوجد قليل من الصبغات الضوئية (بكتريوكلوروفيل أ) مرتبط بالغشاء السيتوبلازمى للخلية [أنظر جدول ٧ (٢)- ٣٢]، ومزارع هذه البكتريا ، خضراء اللون (لوجود بكتريوكلوروفيل جـ أو د) ، أو بنية اللون (لوجود بكتريوكلوروفيل هـ) .

وكالبكتريا الأرجوانية ، فإن بكتريا الكبريت الخضراء ، منها ماهو كبريتى Green sulfur bacteria ، مثل البكتريا التابعة لفصيلة Chlorobiaceae ، ومنها ماهو غير كبريتى Green non-sulfur bacteria ، مثل البكتريا التابعة لفصيلة Chloroflexaceae .

ولذلك فإن البكتريا الممثلة للضوء الخضراء ، تضم فصيلتين ، هما

أ – Chlorobiaceae : فصيلة البكتريا الخضراء الكبريتيه ، وهى تستخدم H_2S كمانح للايدروجين .

ب – Chloroflexaceae : فصيلة البكتريا الخضراء غير الكبريتية ، وهى غير قادرة على استخدام H_2S كمانح للايدروجين

أ – فصيلة Family Chlorobiaceae

تضم هذه الفصيلة أجناس البكتريا الخضراء الكبريتية Green sulfur bacteria [جدولى ٧ (٢) - ٣٠ و ٣٢] .

خلايا هذه البكتريا متعددة الأشكال

* فقد تكون بيضاوية أو عصوية ، مثل التابعة لجنس *Chlorobium* [شكل ٧ (٢) - ٦٥]، ومن أنواعه *C. limicola, C. vibrioforme* .
* وقد تكون الخلايا بيضاوية ومتجمعة على شكل نجمة ، نتيجة تقابل الزوائد Prosthecae التى تكونها الخلايا ، مثل التابعة لجنس *Prosthecochloris* ، ومن أنواعه *P. aestuarii* .
* أو عصويات فى سلاسل مكونة لتجمع شبكى مثل التابعة لجنس *Pelodictyon* ، ومن أنواعه *P. clathratiforme* .
* أو تكون خيطية زاحفة وتوجد بالبحار مثل التابعة لجنس *Chloroherpeton* ، ومن أنواعه *C. thalassium* .

عموماً ، فإن معظم خلايا البكتريا الخضراء الكبريتية غير متحركـــة ، تتكـــاثر بالانقســام الثنائى فقط ، ولاتكون فجواتاً غازية بداخل خلاياها ، وإن كان البعض مثل التـــابع لجنــس *Pelodictyon* يكون فجواتاً غازية .

والبكتريا الخضراء الكبريتية لاهوائية ، ممثلة للضوء، ذاتية التغذيـــة Photolithotrophs ، تستخدم H_2S كمانح للإلكترونات لتثبيت CO_2 ، وهى غير قادرة على النمو فى الظلام حتى فى وجود كمية قليلة من الأكسجين ، وترسب حبيبات الكبريت بخـــارج خلاياهـــا (وليــس بداخلها) ، وتؤكسد الكبريت الى SO_4^{2-} .

وتحتاج هذه البكتريا الى وجود عوامل نمو بالبيئة ، مثل فيتامين ب١٢ ، وكثير منـــها قـــادر على تثبيت النتروجين الجوى لاهوائيا فى وجود الضوء ، مثلها مثل البكتريا الأرجوانية .

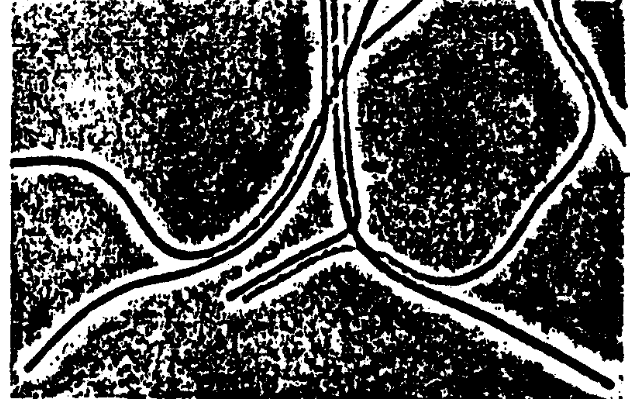
ب – فصيلة Family Chloroflexaceae

تضم هذه الفصيلة أجناس البكتريا الخضراء غير الكبريتيـــة Green non-sulfur bacteria [جدولى ٧(٢) ٣٠ ، ٣٢] ، وأهم أجناس هذه الفصيلة ، هو جنس *Chloroflexus* .

خلايا هذا الجنس خيطية ، قد يصل طولها لحوالى ٣٠٠ ميكرومـــتر [شـــكل ٧ (٢)-٦٨]، وحركته زاحفة ، لايكون فجواتاً غازية بداخل الخلايا ، وهو ذا إحتياجات غذائية معقدة .

والبكتريا الخضراء غير الكبريتية لاهوائية ، ممثلة للضوء ، عضوية التغذية ، مع اســتخدام المادة العضوية كمصدر للكربون وكمانح للإلكترونات ، مثل البكتريـــا الأرجوانيـــة غـــير الكبريتية ، وبعضا منها يستطيع أن ينمو أيضا كذاتى التغذية مـــع اســتخدام H_2S كمـــانح للإلكترونات ، كما تستطيع أن تنمو أيضا فى الظلام هوائيا ، مع أخذ الطاقة مـــن مصـــادر كيميائية عضوية .

النوع *C. aurantiacus* محب للحرارة المرتفعة ، فحرارة نموه المثلى تتراوح بين ٥٢ الـــى ٦٠°م ، وهو يوجد بكثرة فى ينابيع المياه الساخنة ، حيث يكون حصيرة خضراء أو مصفرة اللون بالمياه ، وعادة مايوجد متعايشا مع سيانوبكتريا من جنس *Synechococcus* ، وهـــى سيانوبكتريا محبة للحرارة المرتفعة ممثلة للضوء ، عضوية التغذية ، هوائية اختيارا ، تمـــد البكتريا الخضراء بإحتياجاتها العضوية .



شكل ٧ (٢)-٦٨ : *Chloroflexus aurantiacus* بكتريا خضراء غير كبريتية ، خيطية زاحفـــة × ٧٠٠ .

Q - البكتريا الممثلة للضوء المنتجة للأكسجين :
Oxygenic phototrophic bacteria
سالبة لصبغة جرام ، لاهوائية ، ذاتية التغذية

تضم مجموعة البكتريا الممثلة للضوء المنتجة للأكسجين ، مجموعتين ، هما

١ - مجموعة واسعة الانتشار فى الطبيعة ، وذات أهمية إقتصادية كبيرة ، هى مجموعة السيانوبكتريا **Cyanobacteria** ، وكانت تسمى سابقا بالطحالب الخضراء المزرقة Blue-green algae ، أو بالبكتريا الخضراء المزرقة .

٢ - مجموعة اكتشفت حديثا (Prescott *et al* 1999) ، وهى محدودة الانتشار والأهمية ، وتعرف بمجموعة البروكلوروفايت **Prochlorophytes** .

Q1 - مجموعة السيانوبكتريا (الطحالب الخضراء المزرقة) *
The cyanobacteria (Blue-green algae) [جدولى ٧ (٢) -٣٤ و ٣٥]

تشمل هذه المجموعة [جدولى ٧ (٢) - ٣٤ و ٣٥] أجناسا بكتيرية متنوعة ومتعددة الأشكال [شكل ٧ (٢) - ٦٩] ، فمنها ماهو وحيد الخلية غير متحرك ، كروى أو عصوى ، ومنها ماهو عديد الخلايا متحرك بحركة زاحفة ، خيطى متفرع أو غير متفرع ، ومنها مايكون أو لايكون هيتروسست ، أو يكون خلايا خاصة كالبايوسايت** والأكينيت** والهورموجونيا** ، وفى كثير من الأنواع ، تتكون فجوات غازية بداخل الخلايا .

وخلايا السيانوبكتريا سالبة لصبغة جرام ، هوائية ، ذاتية التغذية ، (قليل منها عضوى التغذية وقادر على النمو فى الظلام ، وأكسدة السكريات كمصدر للطاقة والكربون) ، وهى ممثلة للضوء تحت ظروف هوائية ، كالنباتات الخضراء ، فالسيانوبكتريا تحتوى على كلوروفيل أ ، وكاروتينويدات وفايكوبليبروتينات ، وتستخدم الضوء كمصدر للطاقة لإختزال CO_2 الجو ، فى وجود المادة المانحة للإلكترونات وهى الماء ، مع إنتاج أكسجين أثناء التمثيل الضوئى ، وذلك لأن السيانوبكتريا تحتوى على صبغات النظام الضوئى رقم ١ ورقم ٢ . وتوجد الصبغات الضوئية للسيانوبكتريا فى الثايلاكويدات ، وهى حويصلات غشائية توجد بداخل الخلية ، ويوجد على سطح الثايلاكويد ، أجسام الفايكوبلينات Phycobilisomes وهى حبيبات قرصية الشكل ، تحتوى على صبغات الفايكوبيلين [أنظر جدول ٧ (٢)-٣١ ، ص ٥٠٠ ، لمقارنة السيانوبكتريا مع البكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين] .

توجد السيانوبكتريا بكثرة فى الأراضى والأوساط المائية العذبة والبحرية ، ومنها مايحتمل الحرارة ويوجد فى ينابيع المياه الساخنة مثل *Synechococcus* .

ومن السيانوبكتريا أنواع عديدة قادرة على تثبيت نتروجين الهواء الجوى تحت ظروف هوائية فى وجود الضوء ، وتلعب هذه الأنواع دورا هاما فى خصوبة الأراضى خاصة المنزرعة أرزا ، ومن السيانوبكتريا ماينمو فى تعاون مع كائنات أخرى نباتية كالأشنات وأشجار السيكاس ، وحيوانية كالبروتوزوا .

---

* راجع الجزء الثالث من هذا الكتاب ، الخاص بالسيانوبكتريا ، من ص ١٠٦٣ ومايليها .

** أنظر ص ٥١٥ .

جدول ٧ (٢)- ٣٤ : أجناس بكتيرية سالبة لصبغة جرام هوائية ، ذاتية التغذية ، ممثلة للضوء ، منتجة للأكسجين مجموعة السيانوبكتريا (الطحالب الخضراء المزرقـــة) (Group 11, Bergey's, 1994) .

وحيدة الخلية ، غير متحركة		عديدة الخلايا خيطية ، الحركة زاحفة		
		خلايا الخيط تنقسم فى مستوى واحد		الخلايا تنقسم فى أكثر من مستوى
لاتكون بايوسايت	تكون بايوسايت	لاتكون هتيروسست	تكون هتيروسست	تكون هتيروسست
Or. Chroococcales	**Or. Pleurocapsales**	**Or. Oscillatoriales**	**Or. Nostocales**	**Or. Stigonematales**
Anacystis	*Chroococcidiopsis*	*Arthrospira*	*Anabaena*	*Chlorogloeopsis*
			Anabaenopsis	
Chamaesiphon	*Dermocarpa*	*Lyngbya*	*Aphanizomenon*	*Fischerella*
Chlorogloea	*Dermocarpella*			*Geitleria*
Chroococcus			*Aulosira*	
		Microcoleus		
Cyanotheca	*Myxosarcina*	*Oscillatoria*	*Calothrix*	*Hapalosiphon*
			Cylindrospermum	
Gloeobacter	*Pleurocapsa*			
Gloeocapsa		*Phormidium*		*Mastigocladus*
Gloeothece	*Xenecoccus*		*Dichothrix*	*Mastigocoleus*
		Plectonema	*Gloeotrichia*	
		Pseudoanabaena		*Nostochopsis*
Merismopedia				
Microcystis			*Nodularia*	
		Spirulina	*Nostoc*	*Stigonema*
Synechococcus				
Synechocystis		*Trichodesmium*	*Rivularia*	*Westiella*
			Scytonema	*Westiellopsis*
			Tolypothrix	

جدول ٧ (٢)-٣٥ : أهم مميزات رتب السيانوبكتريا .

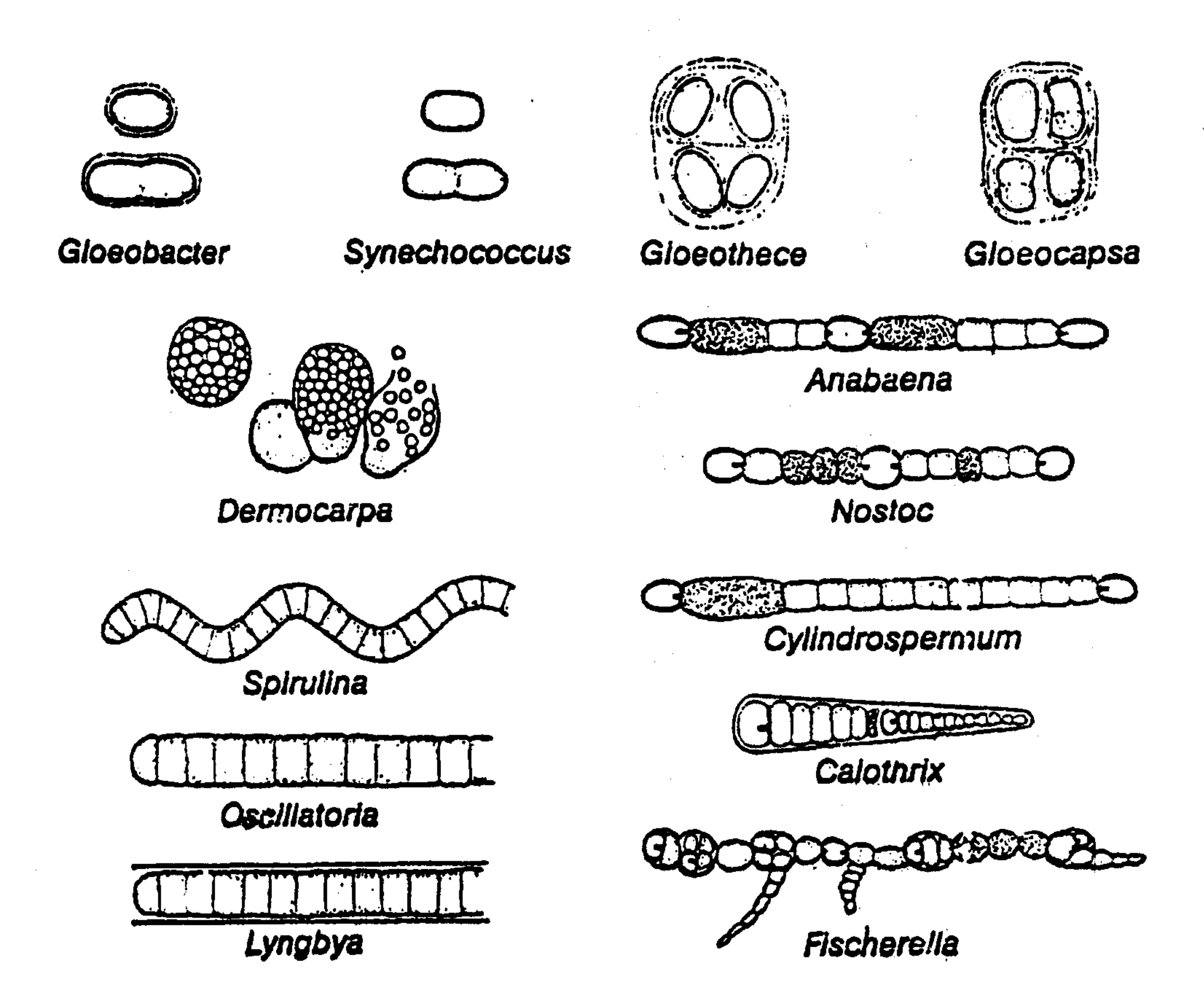
الخاصية	رتب السيانوبكتريا				
	Chroococcales	Pleurocapsales	Oscillatoriales	Nostocales	Stigonematales
شكل الخلية	كروى أو عصوى	كروى أو عصوى وقد تتجمع الخلايا	خيطى غير متفرع ويتكون الخيط من خلايا خضرية فقط	خيطى غير متفرع	خيطى متفرع
الحركة	–	–	زاحفة	زاحفة	زاحفة
وجود هتيروسست[1]	–	–	–	+	+
وجود أكينيت[2]	–	–	–	+	– أو + فى بعض الأنواع
وجود بايوسايت[3]	–	+	–	–	–
إنقسام الخلايا بالخيط	–	–	فى مستوى واحد	فى مستوى واحد	فى أكثر من مستوى
التكاثر	انقسام ثنائى ومتبرعم	انقسام متعدد وبايوسايت	• انقسام ثنائى • تجزؤ الخيط • هرموجونيا[4]	• انقسام ثنائى • تجزؤ الخيط • هرموجونيا	• انقسام ثنائى • تجزؤ الخيط • هرموجونيا
النسبة المئوية لـ G+C الموجودة بحامض DNA % G+C content of DNA	٤٩-٤٠	٤٦-٤٠	٦٧-٤٠	٤٧-٣٨	٤٦-٤٢

١- هتيروسست ، حوصلة مغايرة Heterocyst
خلية خضرية متحورة ، ذات جدار سميك ، توجد على مسافات بخيط بعض أنواع السيانوبكتريا ، وهى تختلف عن خلايا الخيط الأخرى فى صفاتها الفسيولوجية ، إذ أنها قادرة على تثبيت النتروجين الهواء الجوى ، لإحتوائها على إنزيم النتروجينيز .

٢-خلايا أكينيت Akinetes
خلايا لاجنسية تتكون بتغلظ جدر الخلايا الأبوية بخيط السيانوبكتريا ،وهى خلايا كبيرة الحجم نسبياً ، سميكة الجدار ، مقاومة للجفاف ، تمثل طور السكون ، لحين التكاثر عند تحسن الظروف .

٣-خلايا البايوسايت (الخلايا القزمية) ، Baeocytes
خلايا صغيرة الحجم ، كروية الشكل ، تنتجها الخلايا الأم بخيط السيانوبكتريا أثناء انقسامها المتعدد ، وقد يصل عددها بالخلية للمئات ، وتقوم خلايا البايوسايت بعد خروجها من خلية الأم ، بعملية التكاثر .

٤-هرموجونيا Hormogonia
خلايا توجد بخيط بعض أنواع السيانوبكتريا ، تنفصل من الخيط وتعمل كعضو تكاثر لاجنسى .



شكل ٧ (٢)-٦٩ : أشكال توضيحية لخلايا السيانوبكتريا .

لاحظ

* جراثيم البايوسايت (الخلايا القزمية) فى *Dermocarpa*
* خلايا هتيروسست فى *Anabaena & Nostoc* .
* خلايا الاكينيت (المنقطة بالأشكال) فى *Cylindrospermum* .
* الغلاف المحيط بالخيط فى *Lyngbya* .

أقسام السيانوبكتريا : [جدولى ٧ (٢) - ٣٤ و ٣٥]

تقسيم السيانوبكتريا مبنى على أسس مورفولوجية لنماذج جُمعت من الأوساط الطبيعية، لذلك فهو خاضع للتغيير المستمر ، منذ أن وضع Geitler, 1932 ، هذه الأسس ، وحتى ماجاء بمرجع برجى عام ١٩٩٤ ، ولذلك فإنه فى نظم التقسيم المختلفة ، قد تنقل مجموعة من قسم لآخر ، حسب مايستجد من تقنيات ، ومايتوفر من معلومات وراثية .

وعموما ، تقسم السيانوبكتريا (Holt *et al*, 1994) حسب خواصها المورفولوجية ، وطريقة التكاثر ، والتركيب الخلوى ، والخواص الفسيولوجية وأحيانا الوراثية ، الى خمسة رتب هى

١- رتبة Chroococcales

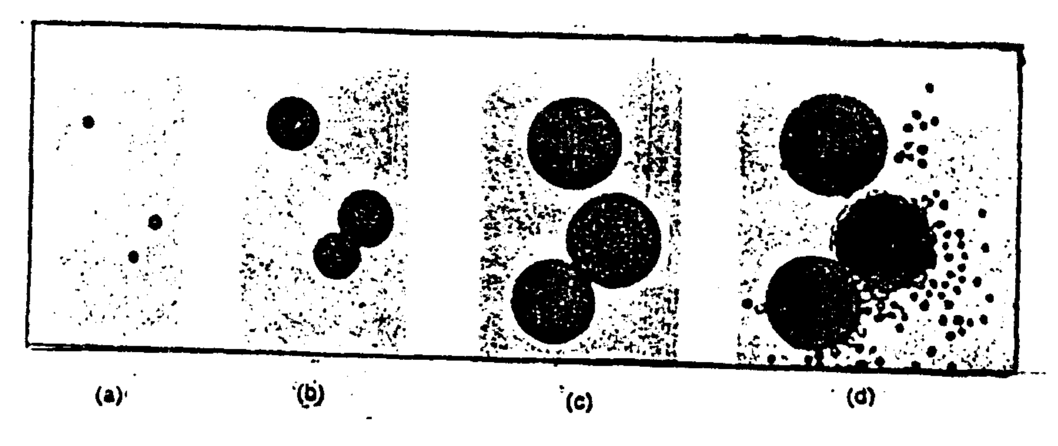
تضم هذه الرتبة أجناس السيانوبكتريا وحيدة الخلية ، الكروية أو العصوية ، وقد تتجمع الخلايا فى تكتلات ، وتتكاثر هذه البكتريا بالانقسام الثنائى أو بالتبرعم ، دون أن تكون خلايا بايوسايت Baeocytes .

من أجناس هذه الرتبة *Gloeobacter, Gloeocapsa, Gloeothece, Synechococcus*

٢- رتبة Pleurocapsales

تضم هذه الرتبة أجناس السيانوبكتريا وحيدة الخلية ، وقد تتجمع الخلايا فى مجاميع ، وتتكاثر بالانقسام المتعدد Multiple fission (أنظر ص ٥١٩) ، وتتميز بتكوين خلاياها بالانقسام المتعدد، لجراثيم قزمية ، تعرف بالبايوسايت Baeocytes [شكل ٧ (٢) - ٧٠] .

من أجناس هذه الرتبة *Dermocarpa, Pleurocapsa* .



شكل ٧ (٢)- ٧٠ : *Dermocarpa*
صور للدرموكاربا تمت على فترات متتالية ، خلال فترة ٢٤٠ ساعة ، تبين مراحل الانقسام المتعدد بالخلية
a,b,c : زيادة فى حجم الخلية من مرحلة لأخرى
d : خروج الخلايا البنوية الصغيرة الحجم (البايوسايت) ، التى تكونت بالانقسام المتعدد من الخلية الخضرية الأم (× ٣٠٠) .

٣- رتبة Oscillatoriales

تضم هذه الرتبة أجناس السيانوبكتريا عديدة الخلايا الخيطية ، ويتكون الخيط البكتيرى من خلايا خضرية فقط ، ولايكون هتيروسست .

من أجناس هذه الرتبة Lyngbya, Oscillatoria, Phormidium, Plectonema, Spirulina

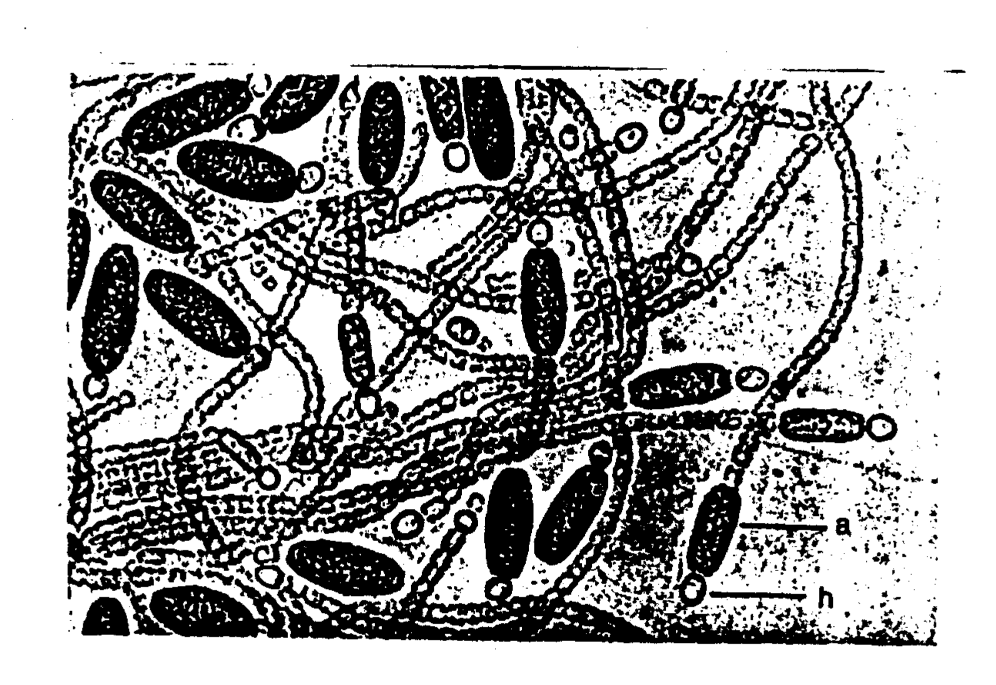
٤- رتبة Nostocales

تضم هذه الرتبة أجناس السيانوبكتريا عديدة الخلايا الخيطية ، التى تكون هتيروسست . وتنقسم خلايا الخيط فى مستوى واحد .

فى بعض الأحيان تتحول بعض خلايا الخيط الى جراثيم ساكنة تعرف بجراثيم الأكينيت Akinetes [شكل ٧ (٢)-٧١] .

من أجناس هذه الرتبة

Anabaena, Calothrix, Cylindrospermum, Nostoc, Scytonema



شكل ٧ (٢) - ٧١
Cylindrospermum : سيانوبكتريا خيطية غير متفرعة (× ٣٨٠)
لاحظ a : الأكينيت
h : هتيروسست

٥- رتبة Stigonematales

تضم هذه الرتبة أجناس السيانوبكتريا عديدة الخلايا الخيطية التى تكون هتيروسست ، وتنقسم خلايا الخيط فى أكثر من مستوى ، وبعض الأنواع يكون أكينيت .

من أجناس هذه الرتبة *Fischerella, Stigonema* .

رتب السيانوبكتريا الخيطية الثلاثة السابقة زاحفة ، تتكاثر بالانقسام الثنائى للخلايا التى بداخل الخيط ، أو بتجزؤ الخيط ، أو بتكوين هورموجونيا Hormogonia .

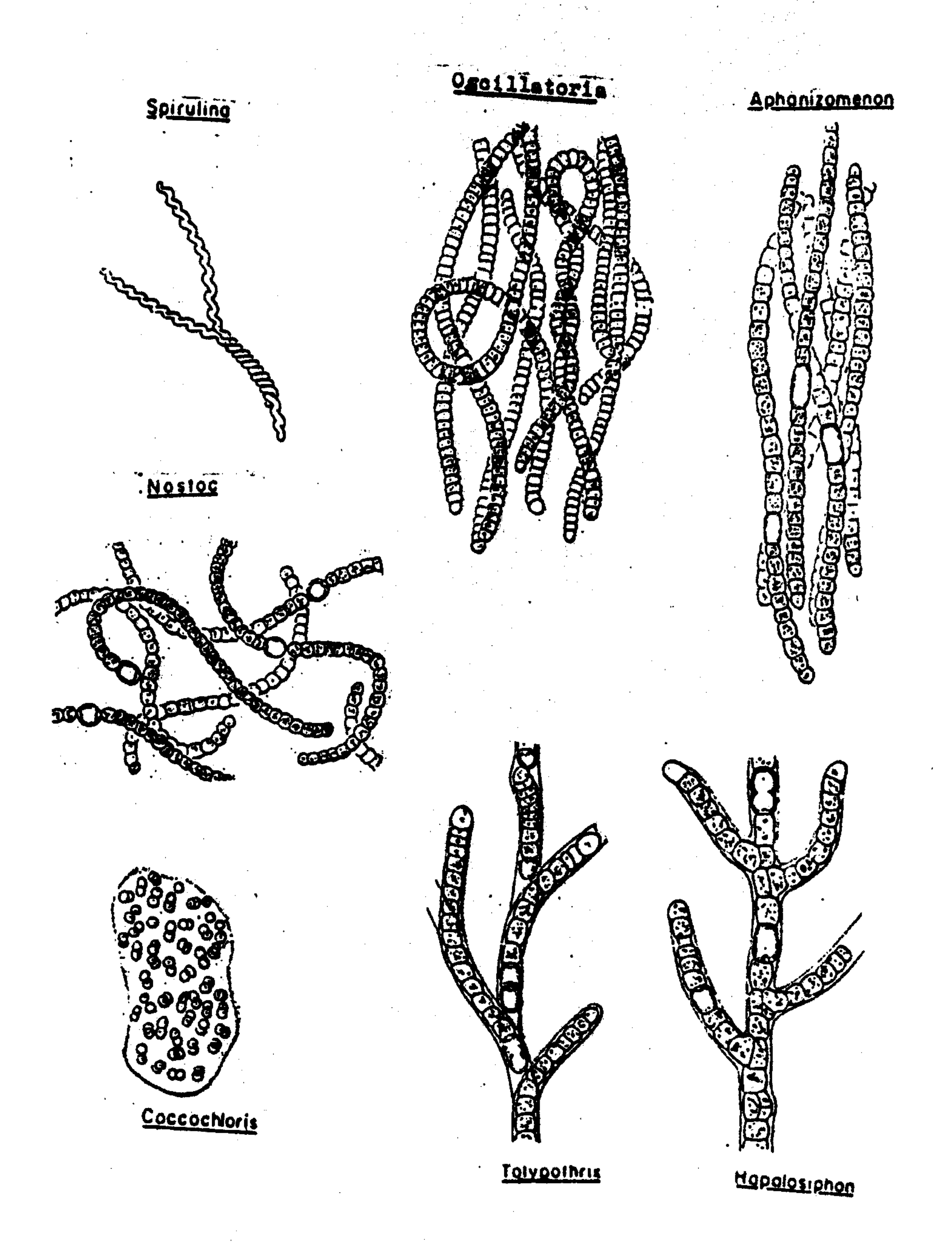
والشكل [٧ (٢) -٧٢] يبين أشكال بعض الأنواع الشائعة للسيانوبكتريا .

الانقسام المتعدد Multiple fission فى خلايا السيانوبكتريا

هو أحد أنواع التكاثر اللاجنسى ، الذى تتميز به بعض أجناس السيانوبكتريا وحيدة الخلية ، مثل تلك التابعة لأجناس *Dermocarpa, Pleurocapsa* .

وفى هذا النوع من التكاثر ، يزيد حجم الخلية التامة النمو عدة مرات ، ثم يحدث بها وبسرعة عدة إنقسامات خلوية متعددة ، فيتكون خلايا بنوية جديدة بداخلها ، صغيرة الحجم ، تعرف بالبايوسايت (خلايا قزمية) Baeocytes ، بعدها يتحطم جدار خلية الأم ، وتخرج منها الخلايا البنوية الجديدة لتعاود دورة الحياة [أنظر شكل ٧ (٢)-٧٠ ، ص ٥١٧] .

أنواع شائعة من السيانوبكتريا



شكل ٧ (٢)- ٧٢ : بعض الأنواع الشائعة من السيانوبكتريا .

Q2 – مجموعة البروكلوروفايت : Prochlorophytes

مجموعة بكتيرية تم التعرف عليها حديثــا (Prescott *et al* 1999) ، وهى خلايــا هوائية ، ممثلة للضوء ، منتجة للأكسجين ، تجمع فى صفاتـــها بيــن البروكاريوتــا (السيانوبكتريا) ، والايوكاريوتا (الطحالب الخضراء) .

فتتشابه البروكلوروفايت مع السيانوبكتريا فى تركيبها الخلوى ، فهى ســـالبة لصبغــة جرام ، يحتوى جدارها على حامض ميراميك ، وليس بها عضيات ، ونواتها بدائيــة ، ويصل حجم جينومها الى ٣,٦ × ١٠^٩^ ، وتختلف عن السيانوبكتريا فى عدم إحتـــواء خلاياها على الفايكوبلينات ، لذلك تبدو خلاياها خضراء ، أكثر من كونـــها خضـــراء مزرقة .

وتشبه البروكلوروفايت الطحالب الخضراء ، فى إحتوائها على كلوروفيل أ ، وأيضــا على كلوروفيل ب الذى لايوجد إلا فى الطحالب الخضراء .

من الأجناس التابعة لمجموعة البروكلوروفايت *Prochloron & Prochlorothrix* .

جنس البروكلورون *Prochloron*

الخلايا كروية الشكل ، وهو متكافل إجبارى خارجى على لافقاريات بحريـــة تعــرف بالزقيات Ascidians ، ولم يتم تنمية بكتريا البروكلورون بحالة نقية حتـــى الآن فـــى البيئات التركيبية .

جنس البروكلوروثريكس *Prochlorothrix*

الخلايا اسطوانية خيطية ، تعيش حرة فى المياه العذبة ، وأمكن تنميتها بحالة نقية فـــى البيئات التركيبية تحت ظروف ضوئية .

ومن الأنواع التابعة لهذا الجنس *P. hollandica* .

R - مجموعة الأركيوبكتريا : Archaeobacteria, Archaebacteria[1،2]

تمثل الأركيوبكتريا (البكتريا العتيقة) قسما رئيسيا من البكتريا يتميز بصفات خاصة ، كما أكدت بذلك الدراسات التى تمت على أساس مميزات الرنا الرايبوسومى والصفات الأخرى بالخلية . ويعود ذلك الى أن الأركيوبكتريا ، إختلفت منذ بداية نشأة الحياة على الأرض ، فى تطورها الوراثى عن مجاميع البكتريا الأخرى المعروفة باسم البكتريا الحقيقية (الإيوباكتريا) Eubacteria ، مثل الإشيريشيا والباسلس .

فالبكتريا المعروفة لدينا حاليا نشأت فى بداية التطور ، من صيغة سلفية مبكرة ، وتطورت هذه الصيغة من خلال طريقين ، كل منهما سار فى درب تطورى مختلف عن الأخر ، لينشأ قسمين رئيسيين هما الأركيوبكتريا والإيوبكتريا ، ويصبح لكل منهما صفاته المميزة . ويوضح جدول [٧ (٢)-٣٦] ، الاختلافات الرئيسية بين الأركيوبكتريا والايوبكتريا .

وتتواجد الأركيوبكتريا فى أوساط ذات صفات خاصة شديدة التميز ، مثل عدم وجود أكسجين بالوسط ، وتوفر ملوحة عالية ، ووجود حموضة وحرارة مرتفعة ... الخ ، وهى صفات بيئية تناسب تلك الظروف التى نشأت فيها الأركيوبكتريا ، وهى الظروف التى كانت سائدة فى العصور السحيقة Archaeic times فى بداية نشأة الحياة .

والأركيوبكتريا ، مثل الأيوباكتريا ، ليست بمجموعة بكتيرية واحدة متجانسة ، بل تضم مجاميع بكتيرية عديدة متباينة الصفات ، كتلك التباينات القائمة بين أنواع البكتريا الحقيقية المختلفة ، فمن الأركيوبكتريا ماهو سالب أو موجب لصبغة جرام ، ذاتى أو خليط التغذية ، هوائى أولاهوائى ، مع وجود إختلافات فيما بينها من حيث شكل الخلية ، ومكوناتها ، ونظم أيضها الغذائى ، وطرق تكاثرها .

وحسب المعلومات المتاحة حتى الأن[٣] (Bergey's 1994 & 2001) ، فإن الأركيوباكتريا تضم المجموعات الخمسة التالية [جدول ٧ (١)- ٣٧]

١- البكتريا المنتجة لغاز الميثان .... Methanogenic bacteria , Methanogens

٢- البكتريا المحبة للملوحة إجبارا
Extremely halophilic bacteria; Halobacteria; Red extreme halophiles

٣- البكتريا المحبة للحموضة والحرارة المرتفعة معا
Thermoacidophilic bacteria; Thermoacidophiles

٤- الأركيوبكتريا عديمة الجدار الخلوى .... Cell wall-less Archaeobacteria

٥- الأركيوبكتريا المختزلة للكبريتات .... Archaeal sulfate reducers

---

١- راجع نظم تقسيم البكتريا بالفصل الأول من هذا الباب ، ص ٣٧٠ ومايليها .

٢- فى مرجع برجى لعام ٢٠٠١ ، الذى ظهر منه المجلد الأول حتى كتابة هذه السطور ، وجارى استكمال باقى مجلداته الخمس ، فإن مملكة بدائيات النواة ، قسمت الى مجموعتين متميزتين ، هما مجموعة بكتريا الأركيو Domain Archaeobacteria ، ومجموعة البكتريا الحقيقية Domain Eubacteria .

٣- أنظر المراجع التالية ص ٥٣٠ : Garrit 2001 & William 1994 .

جدول ٧ (٢)- ٣٦ : بعض الفروقات الأساسية بين مجموعة الأركيوبكتريا ومجموعة الإيوبكتريا .

الخاصية	الأركيوبكتريا	الإيوبكتريا
جدار الخلية		
إحتواء الببتيدوجلوكان على حامض ميراميك ، وأحماض ثنائية الأمين	ـ [1]	+
لبيدات الغشاء البلازمى		
– أحماض دهنية طويلة السلسلة ، مرتبطة مع الجلسرول بروابط استر Ester	–	+
– كحولات متفرعة طويلة السلسلة (Phytanols) ، مرتبطة مع الجلسرول بروابط إثير Ether	+	–
خواص مرتبطة بتخليق البروتينات بالخلية		
أول حامض أمينى لتخليق سلسلة جديدة عديدة الببتيدات		
– مثيونين	+	–
– فورمايل مثيونين N-formylmethionine	–	+
عملية الترجمة الى سلسلة عديدة الببتيدات ، حساسة لتأثير		
– توكسين الدفتريا [2]	+	–
– الكلورامفنيكول [3]	–	+
قرين انزيم F 430 [4]	+	–
تثبيت CO_2 أوتوتروفيا ، عن طريق	Acetyl CoA pathway فى البكتريا المنتجة للميثان	Ribulose diphosphate cycle

١- عدم إحتواء الجدار الخلوى للأركيوبكتريا على الهيكل الببتيدوجلوكانى ، يفسر سبب عدم تأثر الأركيوبكتريا بالمضادات الحيوية التى تؤثر على الإيوبكتريا ، مثل Penicillin, Cephalosporin, D-Cycloserine .

٢- يثبط توكسين الدفتريا ، تخليق البروتين بخلية الأركيوبكتريا ، بتأثيره على الانزيمات التى تعمل على استطالة السلسلة الببتيدية .

٣- يثبط الكلورامفنيكول تخليق البروتين بخلية الأيوبكتريا ، بإتحاده مع 50 S, RNA .

٤- F 430 ، قرين انزيم يحتوى على النيكل ، Nickel tetrapyrrol factor ، يوجد بالبكتريا المنتجة لغاز الميثان، و (أنظر ص ٥٢٦) .

أقسام الأركيوبكتريا

١- البكتريا المنتجة لغاز الميثان : Methanogenic bacteria, Methanogens

[جدولى ٧ (٢) ٣٧ و ٣٨]

تشمل مجموعة البكتريا المنتجة لغاز الميثان [جدول ٧ (٢)- ٣٧] ، أجناساً متعددة الأشكال والصفات [جدول ٧ (٢)- ٣٨] وشكل [٧ (٢) - ٧٣] ، فمنها الكروى والعصوى والحلزونى والخيطى ، والموجب والسالب لصبغة جرام (حسب تركيب الجدار الخلوى ، فالموجبة لجرام يحتوى جدارها على ميورين كاذب ، والسالبة يحتوى جدارها على جليكوبروتين) ، كما أن منها المحب للحرارة المتوسطة والمحب للحرارة المرتفعة مثل *Methanobacterium thermoautotrophicum* & *Methanothermus fervidus*

جدول ٧ (٢) - ٣٧ : أجناس مجموعة الأركيوبكتريا

متعددة الأشكال ، متباينة لصبغة جرام ، هوائية أو لاهوائية
. (Groups 31 - 35, Bergey's, 1994)

Group 31	Group 35	Group 33
منتجة لغاز الميثان Methanogens	محبة للحموضة والحرارة المرتفعة معا Thermoacidophiles	محبة للملوحة Halophiles
لاهوائية حتماً ، متباينة لجرام	١- هوائية ، سالبة لجرام	هوائية ، سالبة لجرام
Methanobacterium *Methanobrevibacter* *Methanococcus* *Methanogenium* *Methanohalobium* *Methanohalophilus* *Methanolobus* *Methanomicrobium* *Methanoplanus* *Methanosarcina* *Methanosphaera* *Methanospirillum* *Methanothermus* *Methanothrix*	*Sulfolobus* ٢- لاهوائية ، سالبة لجرام *Desulfurococcus* *Desulfurolobus* *Desulfuromonas* *Pyrococcus* *Pyrodictium* *Staphylothermus* *Thermococcus* *Thermodiscus* *Thermofilum* *Thermoproteus*	*Halobacterium* *Halococcus* *Haloferax* *Natronobacterium* *Natronococcus*

Group 32	Group 34
مختزلة للكبريتات لاهوائية حتماً ، سالبة لجرام *Archaeoglobus*	محبة للحموضة والحرارة المرتفعة معاً هوائية ، سالبة لجرام ، بدون جدار خلوى *Thermoplasma*

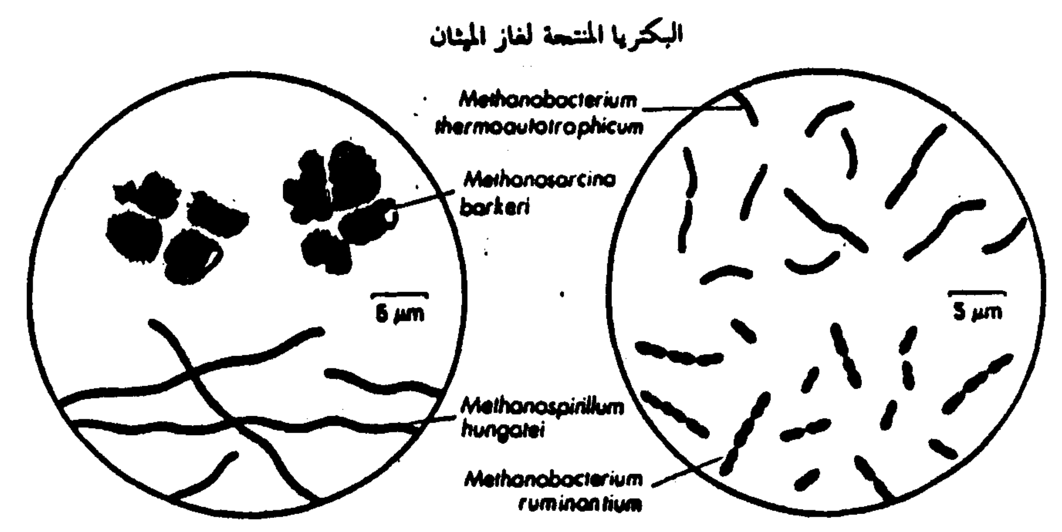
جدول ٧ (٢)- ٣٨ : صفات بعض أجناس البكتريا المنتجة لغاز الميثان .

الجنس والنوع	الشكل المورفولوجي	الحركة	تركيب جدار الخلية
Methanobacterium *M. formicicum* *M. omelianskii* *M. ruminantium* *M.thermoautotrophicum*	عصوى طويل متغير لجرام	-	ميورين كاذب * Pseudomurein
Methanobrevibacter *M. smithii*	كروى أو عصوى قصير جرام موجب	-	ميورين كاذب
Methanococcus *M. vannielii*	كروى متعدد الأشكال جرام سالب	+ خصلة واحدة من الأسواط	بروتين مع آثار من جلوكوز أمين
Methanogenium *M. marisnigri*	كروى متعدد الأشكال جرام سالب	+ أسواط محيطية	بروتين
Methanomicrobium *M. mobile*	عصوى قصير جرام سالب	+ سوطى واحد طرفى	بروتين
Methanosarcina *M. barkeri*	كروى فى مكعبات جرام موجب	-	سكريات معقدة خليطة
Methanospirillum *M. hungatei*	عصويات منحنية أو خيطية متموجة جرام سالب	+ أسواط طرفية	بروتين الخلايا محاطه بغلاف بروتينى

* الميورين الكاذب **Pseudomurein**

بوليمر يتشابه ظاهريا مع بيتيدوجلوكان الإيوبكتريا ، ولكن يختلف عنه تماما فى تركيبه الكيميائى من حيث :

* عدم إحتوائه على حامض ميوراميك .
* عدم إحتوائه على أحماض ثنائية الأمين .
* إحتوائه على ببتيد رباعى يتكون أساسا من **L-amino acids** وجلوتاميك



شكل ٧ (٢)- ٧٣ : رسوم توضح خلايا بعض أنواع البكتريا المنتجة لغاز الميثان .

والبكتريا المنتجة لغاز الميثان ، لاهوائية حتما ، تحصل على طاقتها من أكسدة بعض المركبات مثل $CH_3COOH, HCOOH, H_2$ ، وتستخدم الالكترونات الناتجة فى إختزال CO_2 ، مع تكوين غاز الميثان CH_4 .

وبعض الأجناس ذاتية التغذية ، تستخدم H_2 و CO_2 كمصدر للطاقة والكربون ، بينما أجناس أخرى تحتاج فى البيئة الى وجود مواد عضوية ، وعوامل نمو كالفيتامينات ومستخلص الخميرة .

كما تحتوى البكتريا المنتجة لغاز الميثان على قرائن إنزيمية خاصة بها ، ومنها ما لايوجد فى أنواع البكتريا الأخرى ، ومن هذه القرائن الإنزيمية

CoM : وهو Mercapto ethane sulphonate ، ورمزه $HS\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}SO_3H$ ، ويشارك فى تفاعلات إنتقال مجموعة الميثايل .

CoF420 : وهو من مركبات الفلافين ، وهو يتفسفر (يبث وميضا فوسفوريا) عند تعرضه للأشعة فوق البنفسجية .

Co F430: وهو Nickel-tetrapyrroi factor .

وكلا العاملين F430, F420 ، يشاركان فى النظام اللاهوائى الناقل للإلكترونات بالخلية .

تتواجد البكتريا المنتجة لغاز الميثان فى الأوساط اللاهوائية المختلفة ، الغنية بالمواد العضوية مثل البرك والمستنقعات ، وفى طين قاع البحيرات ، وفى القناة الهضمية للإنسان والحيوان ، وفى كرش المجترات ، وأحواض معالجة مخلفات المجارى .

ويستفاد من هذه البكتريا ، فى انتاج الغاز الحيوى بتخمير المخلفات العضوية لاهوائيا، ويستخدم الغاز الحيوى كبديل للطاقة ، فى الصناعة وفى الأغراض المنزلية .

٢- البكتريا المحبة للملوحة إجباراً

Extremely halophilic bacteria, Halobacteria, Red extreme halophiles

تضم هذه المجموعة [جدول ٧ (٢) - ٣٧] أجناسا بكتيرية ، تتميز بأنها

- يتراوح شكلها مابين الكروى غير المتحرك كما فى جنس *Halococcus* ، الى العصوى المتحرك أو القرصى كما فى جنس *Halobacterium* .
- هوائية ، سالبة لصبغة جرام ، منها المتحرك وغير المتحرك .
- تكون مستعمراتا على البيئة الصلبة لونها أصفر محمر ، نتيجة لما تحتويه من صبغات كاروتينويدية (تسمى هالوروبرين Haloruberin) . وهذه الصبغات تحمى الخلايا التى تتواجد غالبا فى أوساط معرضة لإضاءة عالية ، من تأثير ضوء الشمس الضار على الخلايا .
- عضوية التغذية ، كيميائية الطاقة .
- تحتاج فى نموها الى وسط يحتوى على حوالى من ١٧ الى ٢٣% NaCl (من ٣,٥ الى ٥,٠ مولر NaCl) .
- منها ، مثل *Halobacteriium halobium* ، مايستطيع استخدام الطاقة الضوئية كمصدر للطاقة * فى أيضه الغذائى ، لاحتوائه على الصبغة الضوئية القرمزية اللون ، الرودوبسين البكتيرى Bacteriorhodopsin ، التى توجد فى الغشاء السيتوبلازمى للخلية ، وتعيش هذه البكتريا فى الملاحات وفى المحاليل الملحية المشبعة .

تأثير التركيزات العالية من الأملاح

فى التركيزات العالية من ملح NaCl ، فإن خلايا البكتريا المحبة للملوحة إجبارا ، تقاوم الجفاف ، بالمحافظة على وجود تركيز أسموزى مرتفع من KCl بداخل الخلية . فالغشاء السيتوبلازمى للخلية ، ومابالخلية من رايبوسومات ، تكون ثابتة عند التركيزات المرتفعة من KCl فقط ، كما أن فعاليات الإنزيمات الخلوية تكون نشطة فقط عند التركيزات المرتفعة من KCl أو NaCl .

ويتركب الجدار الخلوى فى بكتريا جنس *Halobacterium* من وحدات بروتينية ، تكون مرتبطة مع بعضها فقط فى وجود تركيزات مرتفعة من NaCl ، فإذا ماانخفض تركيز NaCl عن ١٠% ، فان الخلايا البكتيرية تتحلل Lyse ، وتتسرب محتوياتها الخلوية الى الوسط .

وعلى العكس من ذلك ، فإن الجدار الخلوى فى بكتريا جنس *Halococcus* ، يتركب من سكريات معقدة خليطة ، وهى ثابتة حتى عند التركيزات المنخفضة من NaCl .

تواجد البكتريا المحبة للملوحة إجباراً

تتواجد البكتريا المحبة للملوحة إجبارا فى الأوساط المرتفعة الملوحة ، مثل مياه البحر الميت بالأردن ، والبحيرات الملحية العظمى بالولايات المتحدة ، وفى الملاحات ، والمصانع التى تُنتج الملح بالتبخير الشمسى لمياه البحر ، كما تتواجد فى المخللات ، والأغذية البروتينية المملحة ، كالأسماك المملحة ، وقد تسبب فساد وتلون هذه الأغذية .

---

* أنظر ص ٨٣٩ - استخدام البكتريا المحبة للملوحة للطاقة الضوئية .

٣- البكتريا المحبة للحموضة والحرارة المرتفعة معا

Thermoacidophilic bacteria; Thermoacidophiles [جدول ٧ (٢) - ٣٧]

تتميز هذه المجموعة البكتيرية بأنها غير منتجة لغاز الميثان ، وبأنها محبة للنمو فى وسط ذو حموضة مرتفعة وفى نفس الوقت ذو درجة حرارة مرتفعة . وهذه البكتريا سالبة لصبغة جرام ، هوائية أو لاهوائية ، ذاتية أو عضوية التغذية ، معظمها يمثل الكبريت ، حيث تؤكسد الكبرتيد تحت الظروف الهوائية ، وتحول H_2S إلى S ، أو تختزل الكبريت تحت الظروف اللاهوائية ، وتحول S إلى H_2S .

وتنتشر هذه البكتريا فى الأماكن شديدة الحرارة، المالحة ، التى تحتوى على كبريت أو كبريتات.

أ - الأجناس الهوائية

من الأجناس الهوائية التابعة للبكتريا المحبة للحموضة والحرارة المرتفعة معا ، جنس *Sulfolobus* . وخلايا هذا الجنس كروية أو قرصية الشكل ، جدارها الخلوى يتركب أساسا من بروتين ، وهى غير متحركة ، محبة للحموضة والحرارة المرتفعة معاً ، فتتراوح درجة حرارة نموها المثلى مابين ٧٠ الى ٧٥°م ، وتتحمل درجة حرارة حتى ٩٠°م ، وق يد المثلى لنموها ٢,٠ (ق يد الدنيا ١,٠ ، والعظمى ٤,٠) .

والسلفولوباس ذاتية التغذية إختيارا ، فهى تستطيع أن تكون ذاتية التغذية عندما يتوفر بالوسط عنصر الكبريت كمانح للإلكترونات ، حيث تؤكسد S إلى SO_4^{2-} ، كما تستطيع أن تنمو كخليطة التغذية ، فى وجود مصادر عضوية مناسبة بالوسط كالجلوتاميك والببتون .

توجد بكتريا السلفولوباس فى ينابيع المياه الحارة الحامضية ، ومن أنواعها الواسعة الانتشار *S. acidocaldarius* .

ب - الأجناس اللاهوائية

عزلت أجناس لاهوائية من البكتريا المحبة ، للحموضة والحرارة المرتفعة معاً ، من ينابيع المياه الحارة ، ومخلفات البراكين ، وقاع البحار ، ووجد أن درجة حرارة نموها المثلى يتراوح مابين ٨٠ الى ١٠٠°م ، ويطلق على البكتريا المحبة للنمو عند درجات الحرارة المرتفعة هذه (من ٨٠ الى ١٠٠°م) تعبير محبة للحرارة شديدة الارتفاع Hyperthermophiles ، ومن أمثلتها *Pyrodictium brockii* ، وأيضها الغذائى من النوع الذى يسمى بالتنفس الكبريتى Sulphur respiration ، بمعنى أنها قادرة على أكسدة H_2 ، واختزال S الى H_2S ، والحصول على الطاقة (الفسفرة بانتقال الإلكترونات)* تحت ظروف لاهوائية .

تتضمن الأجناس اللاهوائية

* بكتريا ذاتية التغذية إجبارا مثل *Thermoproteus neutrophilus & Pyrodictium occultum*
* بكتريا ذاتية التغذية إختيارا مثل *Thermoproteus tenax*
* بكتريا خليطة التغذية مثل أجناس *Desulfurococcus, Thermococcus, Thermodiscus*

---

* أنظر انتقال الالكترونات تحت ظروف لاهوائية بالفصل الثالث من الباب العاشر ، ص ٧٨٥ ومايليها .

٤- الأركيوبكتريا عديمة الجدار الخلوى : Cell wall-less Archaeobacteria

[جدول ٧ (٢) - ٣٧]

تتشابه هذه البكتريا فى بعض صفاتها مع المايكوبلازما ، فخلاياها بدون جدار خلوى ، وأشكالها متعددة ، تتراوح مابين الكروى الى الخيطى ، وتكون مستعمراتاً دقيقة الحجم بالبيئة الصلبة ، تشبه فى شكلها البيض المقلى Fried-egg .

من الأجناس الهامة التابعة لمجموعة الأركيوبكتريا ، عديمة الجدار الخلوى ، جنس *Thermoplasma* ، وأنواع هذا الجنس سالبة لصبغة جرام ، متعددة الأشكال ، هوائية (قد ينمو لاهوائى فى وجود عنصر الكبريت) ، عضوية التغذية ، محبة للنمو فى وسط ذو حموضة مرتفعة وفى نفس الوقت ذو درجة حرارة مرتفعة . فدرجة حرارة نموها المثلى تتراوح من ٥٥ الى ٥٩°م (الدنيا ٤٠°م ، والعظمى ٦٢°م) ، وق يد الأمثل لنموها ٢.٠ (الدنيا ١,٠ ، والعظمى ٤,٠) وفى الوسط المتعادل ، فإن الخلايا تتحلل Lyse ، وللنوع *T. acidophilum* أصغر حجم جينوم (١ × ١٠^٩) معروف بين أنواع البكتريا غير المتطفلة .

وقد عزلت أنواع جنس الثرموبلازما من ركام الفحم المحترق ، ومن ينابيع المياه الساخنة .

ومن الأنواع التابعة *T. acidophilum & T. volcanium* .

٥- الأركيوبكتريا المختزلة للكبريتات : Archaeal sulfate-reducers [جدول ٧ (٢) - ٣٧]

تمتاز هذه البكتريا بقدرتها على نقل H_2 الى SO_4^{2-} ، كمستقبل نهائى للإلكترونات ، واختزال الكبريتات الى H_2S ، وهو مايعرف بيولوجيا بالتنفس الكبريتائى Sulfate respiration ، بمعنى أن هذه البكتريا قادرة على أكسدة H_2 ، واختزال SO_4^{2-} إلى H_2S ، ومن خلال انتقال الالكترونات بسيتوكروم الخلية ، تتمكن البكتريا من الحصول على الطاقة (الفسفرة بإنتقال الالكترونات) * تحت ظروف لاهوائية .

من أجناس الأركيوبكتريا المختزلة للكبريت جنس *Archaeoglobus* . وأنواع هذا الجنس كروية غير منتظمة الشكل ، مفردة أو فى أزواج ، سالبة لصبغة جرام ، متحركة أو غير متحركة ، لاهوائية حتما ، محبة للنمو على درجات حرارة مرتفعة فحرارة نموها المثلى ٨٦°م و ق يد الأمثل لنموها ٦,٠ .

وهى قادرة على النمو أوتوتروفيا فى وجود الإيدروجين والثيوكبريتات ، وتكوين H_2S ، كما أنها قادرة على النمو هتيروتروفيا (أى خليطة التغذية) ، باستخدام بعض المركبات العضوية ذات الوزن الجزيئى المنخفض كمانح للإلكترونات .

وقد عزلت الأركيوجلوباس من أعماق البحيرات المالحة .

ومن الأنواع التابعة لهذا الجنس

A. fulgidus : وهو متحرك بأسواط طرفية ، ذاتى التغذية

A. profundus : وهو غير متحرك ، خليط التغذية .

---

* أنظر انتقال الالكترونات تحت ظروف لاهوائية بالفصل الثالث من الباب العاشر ، ص ٧٨٥ ومايليها .

مراجع الباب السابع (فصل ١ ، ٢)

References :

Garrit, G.M. Editor in Chief. (2001). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd Ed. Vol. I: The Archaea and the Deaply Branching and Phototrophic Bacteria. Springer Verlag, New York.

Geitler, L. (1932). Cyanophyceae. Akademische, Verlagsgesellschaft, Leipizing.

Holt, J.G.; N. R. Krieg; P. A. Sneath; J.T. Staley and S.T. Williams (1994). In: **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1994)**. 9th Ed., Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, , USA.

Lapage, S.P.; P.A. Sneath; E.F. Lessel; V.B.D. Jr. Skerman; H.P. Seeliger and W.A. Clark (1975). International Code of Nomenclature of Bacteria. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Krieg, N.R. and J.G. Holt (1984, 1986, 1989 & 1989). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 1,2,3 & 4, Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland , USA.

Prescott, L.M.; J.P. Harley and D.A. Klein (1999). Microbiology, 4th Ed., Mc Graw-Hill, New York.

Sneath, P.A. and R.R. Sokal (1973). Numerical Taxonomy. Freeman, San Francisco, USA.

Starr, M.P.; H. Stolp; H.G. Truper; A. Balows and H.G. Schlegel (eds.) (1981). The Procaryotes: A Handbook of Habitats, Isolation and Identification of Bacteria. Vols. 1 & 2, Springer Verlag, New York.

William, R.H. (ed.) (1994). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th Ed., Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, USA.

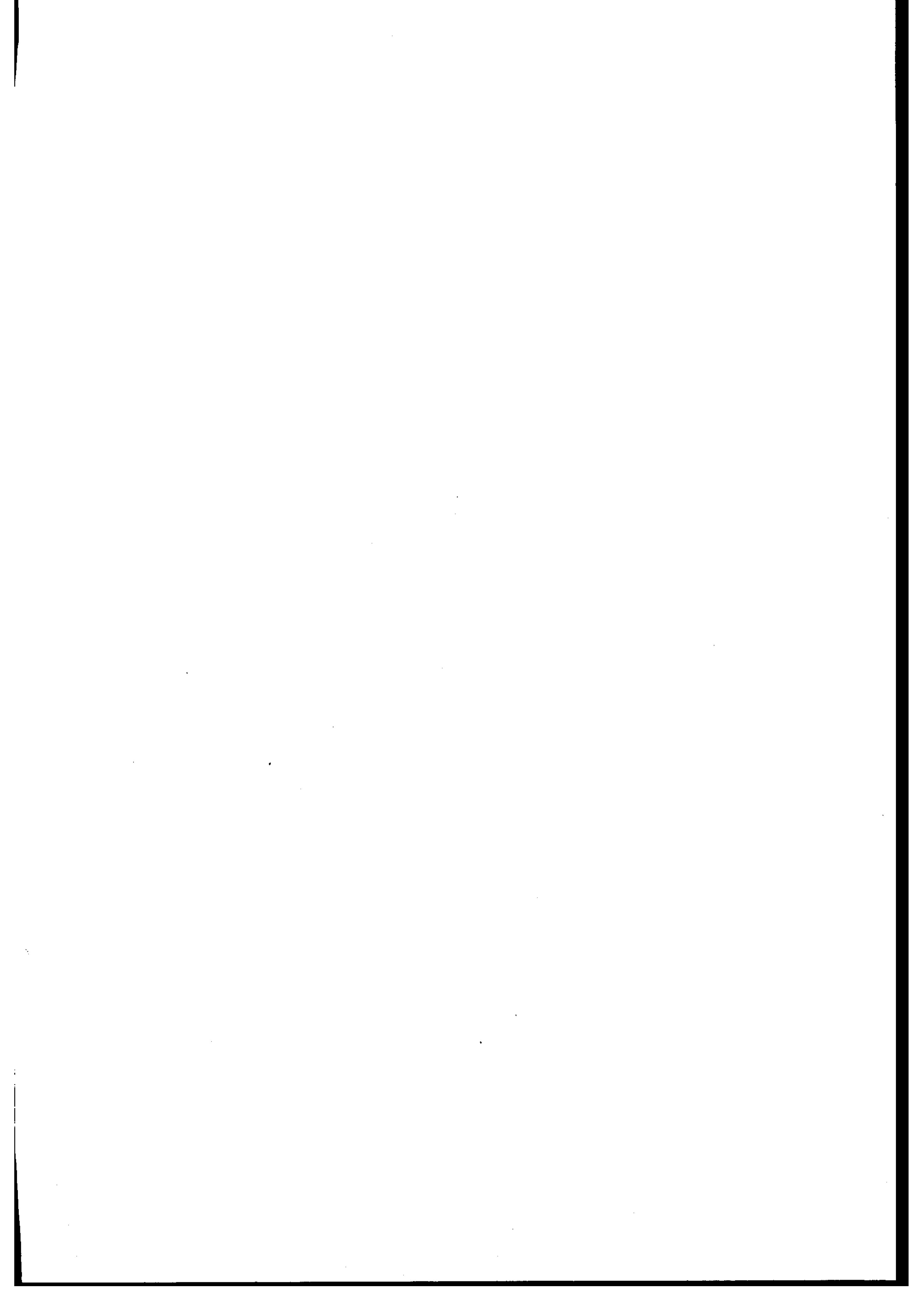
﴿الباب السابع – الفصل الثالث﴾

بكتريا الاندوفايت

البكتريا داخلية المعيشة بالنباتات

المحتويـــات

الموضوع **الصفحة**



«الباب السابع - الفصل الثالث»

بكتريا الإندوفايت Bacterial Endophytes

البكتريا داخلية المعيشة بالنباتات

التعريف والأهمية

يقصد ببكتريا الإندوفايت ، الأنواع البكتيرية غير الضارة التى تتواجد بداخل الأنسجة النباتية (Sturz *et al* 2000) . وتشكل العلاقة القائمة بين بكتريا الاندوفايت والنبات العائل ، حالة تعايش مفيدة بين الكائنين بما يقدمه النبات من مواد مغذية للبكتريا ، وبما تنتجه البكتريا من مواد مشجعة لنمو النبات مثل اندول حامض الخليك ، وماتثبته من نتروجين[أنظر ص ٥٣٧ ، جدول ٧ (٣) - ٢] ، وبما تفرزه البكتريا من مواد مضاده للمسببات المرضية النباتية ، سواء أكانت مسببات فطرية مثل *Fusarium oxysporum* أو مسببات بكتيرية مثل *Erwinia carotovora* ، وقد أمكن حاليا استخدام بكتريا الإندوفايت فى إدخال جينات مرغوبة بالنبات .

تقضى بكتريا الاندوفايت جزءا كبيراً من دورة حياتها بداخل النبات العائل متعايشة معه ، دون أن تسبب له ضرراً أو تحدث به مرضاً ، وبذلك فإن بكتريا الاندوفايت تمثل مع النبات الموجودة به مرحلة تعايش ، تعتبر حالة وسطية بين أنواع البكتريا المترممة والأنواع الممرضة .

ويلاحظ أنه من بكتريا الاندوفايت مايعتبر لختيارى المعيشة الداخلية Fucultative endophyte لأنها تكون قادرة على التواجد والنمو بداخل النبات العائل ، وأيضا بالتربة خارج النبات ، ومن بكتريا الإندوفايت مايعتبر إجبارى المعيشة الداخلية Obligate endophyte ، لأنه يكون غير قادر على النمو بالتربة خارج النبات .

عزل بكتريا الإندوفايت

يتم عزل بكتريا الإندوفايت من النبات العائل بطرق متعددة ، ويتم ذلك بعد إجراء التعقيم السطحى للجزء النباتى المطلوب العزل منه ، وذلك بمواد كيميائية مثل الكحول وهيبوكلوريت الصوديوم ، ثم غسيله عدة مرات بماء معقم .

ومن أكثر الطرق المستخدمة شيوعا هى طحن الجزء النباتى السابق تعقيمه السطحى ، فى هاون مع ماء معقم ، وأخذ المستخلص وعزل البكتريا منه . كما قد يتم عزل بكتريا الاندوفايت من الأوعية الناقلة بالنبات ، باستخلاص السائل الموجود بتلك الأوعية ، بالتفريغ أو بالضغط أو بالطرد المركزى ، ثم يخفف السائل الناتج ، وينمى على بيئات مختلفة ، لإجراء عمليات العزل والتنقية والتعريف .

ويوضح جدول [٧ (٣)-١] بعض أجناس البكتريا التى ينتمى إليها أنواع من بكتريا الاندوفايت .

جدول ٧ (٣) - ١ : أكثر الأجناس* التى تنتمى إليها أنواع بكتريا الاندوفايت ، وقد عزلت من أجزاء نباتية مختلفة لبعض المحاصيل .

الجزء النباتي	المحصـــول	أجناس البكتريا المعزولة
بذور	خضر ، نجيليـــات ، أشـــجار خشبية أرز	*Bacillus, Erwinia, Flavobacterium, Pseudomonas* *Herbaspirillum*
جذور	برسيم حجازى ، ذرة قطن ، بنجر سكر	*Bacillus, Erwinia, Pseudomonas* *Agrobacterium, Arthrobacter, Bacillus, Burkholderia, Enterobacter, Erwinia, Pseudomonas*
درنات	بطاطس	*Agrobacterium, Bacillus, Flavobacterium, Micrococcus, Pseudomonas*
ساق	ذرة ، قطن ، عنب	*Bacillus, Enterobacter , Pseudomonas*
ثمار	خيار ، طماطم	*Achromobacter, Enterobacter, Micrococcus , Pseudomonas*

From : Reinhold and Hurek (1998).

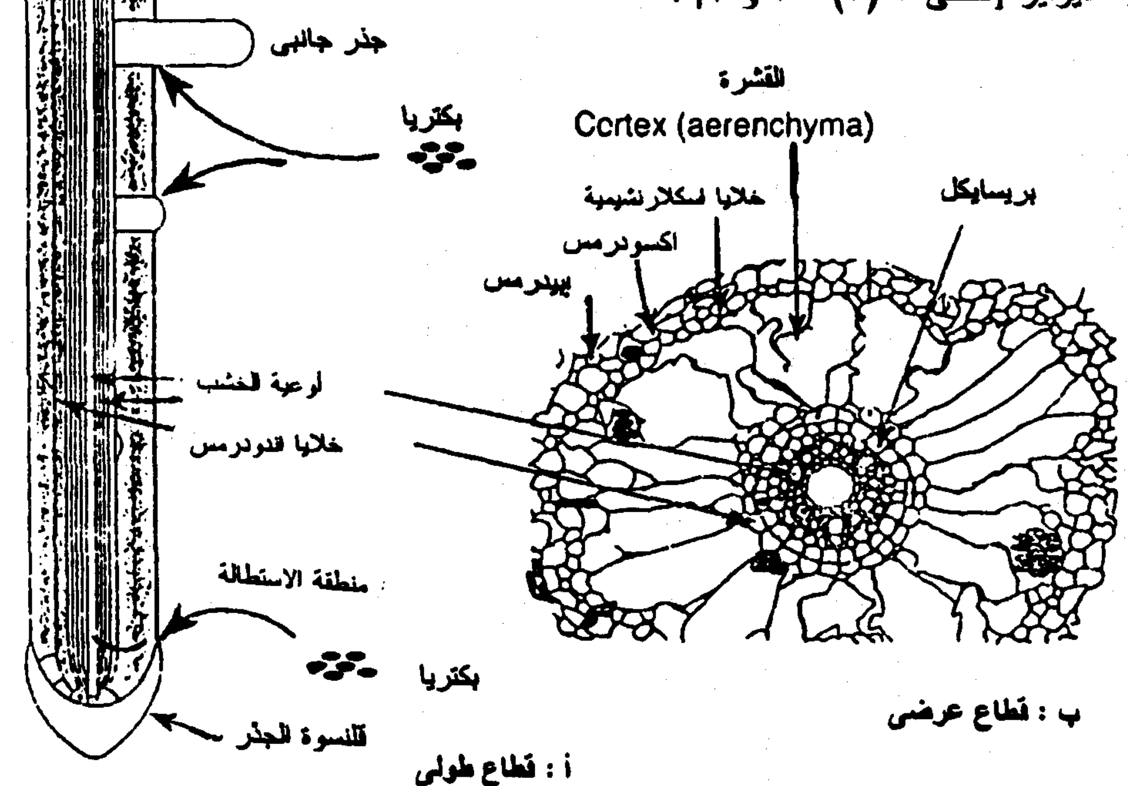
• تنتمى بكتريا الاندوفايت الى أجناس عديدة ، وبعض هذه البكتريا له مدى عوائلى واسع .

مصادر الاندوفايت ومنافذ دخولها : Sources and Points of Entry of Endophytes

المصدر الأساسى لبكتريا الاندوفايت ، هو التربة بمنطقة ريزوسفير النبـــات ، وفـــى بعض الحالات قد يكون المصدر هو أجزاء تكاثر النبات ، كالدرنات فى حالـــة البطـــاطس ، أو البذور كما فى الأرز والنجيليات ، وفى الحالة الأخيرة ، فإن بكتريا الاندوفـــايت تنتقـــل خـــلال البذرة من جيل الى جيل .

بالنسبة لبكتريا الاندوفايت التى مصدرها التربة ، فانها تصل الى أنسجة النبات الداخليـة من منافذ متعددة منها الثغور والعديسات ومناطق نمو الشعيرات الجذرية الجانبيـــة ، غـــير أن المنفذ الرئيسى لبكتريا الاندوفايت هو الجروح التى تحدث بالنبات أثناء نموه من إصابة فطريـــة أو حشرية أو نيماتودية ، أو من عمليات الخدمة الزراعية (كالعزيق والتقليم والتطعيم) ، أو أثناء استطالة الجذور وإختراقها للتربة ، كما أن بعض بكتريا الاندوفايـــت قادرة على الدخـــول الى

أنسجة النبات الداخلية بما تفرزه من انزيمات محللة لجدر خلايا النبات مثل انزيمات البكتينيز والسليوليز [شكلى ٧ (٣) - ١ و ٢] .



شكل ٧ (٣) -١ : المناطق المحتملة لدخول بكتريا الاندوفايت ، وأماكن إستيطانها بالجذر .
أ - قطاع طولى بجذر نبات الأرز .
ب - قطاع عرضى بجذر نبات الأرز

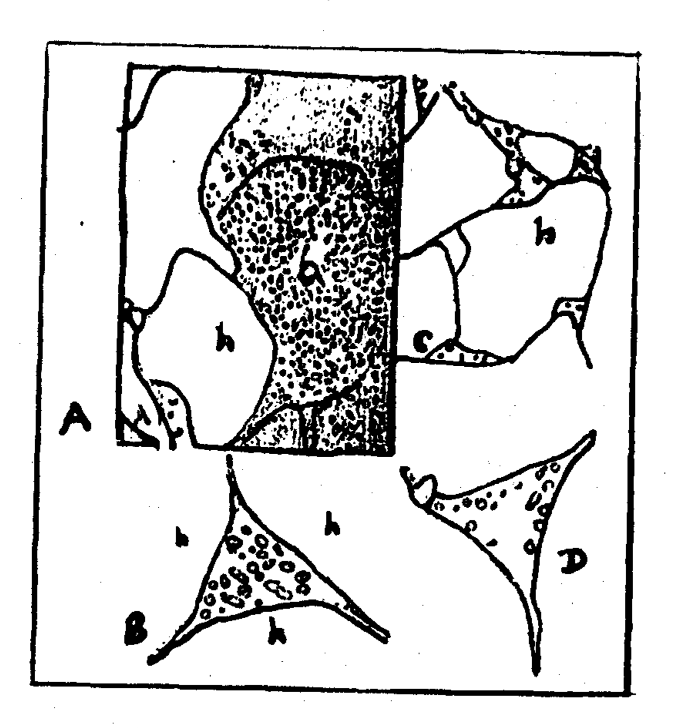
أماكن وجود بكتريا الاندوفايت بالنبات العائل

تتحدد الأماكن التى تستوطنها Colonize* بكتريا الاندوفايت داخل النبات ، بناء على نوع النبات [جدول ٧ (٣) - ٢] .

وبصفة عامة فإن بكتريا الإندوفايت تتواجد إما فى المسافات البينية بين خلايا البشرة والقشرة فى الجذور والسيقان ، أو تعيش فى الأوعية الناقلة بالجذور .

وتنتقل بكتريا الاندوفايت مع العصارة النباتية من الجذور الى السيقان ، أو بالعكس ، كما لوحظ فى حالة بكتريا *Gluconacetobacter diazotrophicus* بنبات قصب السكر .

* يستوطن Colonize : تمكن ومقدرة نوع ميكروبى معين على التواجد فى وسط ما ، وتكوين مستعمرة بذلك الوسط، والعيش به .



شكل ٧ (٣)-٢ : صـــورة بالمجـهر الالكـترونى النـافذ لجـذور ذرة بداخلـها بكتريـا إندوفـايت *Enterobacter cloacae* .

A : قطاع عرضى بجذر أولى ، يوضح وجود خلايا بكتريا الاندوفايت ، فوق الابيدرمس h

b : خلايا بكتريا الاندوفايت × ١٥٠٠ .

B,D : خلايا بكتريا الاندوفايت تقع بالمسافات البينية الناتجة من تجاور ثلاث خلايا h ، × ٢٥٠٠ .

C : مسافات بينية عديدة بين الخلايا ، تحتوى على بكتريا الاندوفايت × ١٠٠٠ .

أعداد بكتريا الاندوفايت بداخل النبات

أعداد بكتريا الاندوفايت بداخل النبات متغيرة ، إذ أن العدد البكتيرى يختلف بـاختلاف نوع النبات ، وبما يحيط بالنبات من ظروف بيئية ، بل ويختلف العدد البكتيرى بداخل نفس النبات الواحد ، باختلاف موقع تواجد بكتريا الاندوفايت بالنبات ، إذا كان جذرا أو ساقا أو أوراقا ... الخ ، كما يختلف العدد حسب طريقة التقدير المستخدمة .

وعادة فإن أعداد البكتريا الموجودة بالجذور والجزء السفلى من السيقان ، يكون أعلى من الأعداد الموجودة بالجزء العلوى من السيقان ، أو تلك التى بالأوراق ، وبصفة عامة ، فقد وجد أن أعداد بكتريا الأندوفايت بمحاصيل عديدة ، يتراوح مابين $١٠^{٤}$ الى $١٠^{٦}$ مستعمرة CFU لكل جرام من الوزن الخضرى الطازج للنبات (**Hallmann *et al* 1997**) .

جدول ٧ (٣)-٢ : بكتريا الإندوفايت المثبتة لنتروجين الهواء الجوى- أماكن الاستيطان Colonization sites ، ومقدار مايثبت من نتروجين .

بكتريا الإندوفايت	النبات العائل	أماكن توطن البكتريا بالنبات	مقدار N المثبت ، مقدراً بطريقة الـ ^{15}N
Acetobacter diazotrophicus•	قصب السكر	- فى ، أو بين ، خلايا البشرة والقشرة فى الجذور والسيقان . - بالأوعية الناقلة بالسيقان	١٥ كجم N/هكتار/ سنة Boddey *et al* 1995
Azoarcus sp.	أرز	- فى ، أو بين ، خلايا البشرة والقشرة فى الجذور - بالأوعية الناقلة بالجذور	٢٥% من إحتياج النبات النتروجينى James, 2000
Azospirillum brasilense	قمح	بين خلايا القشرة فى الجذور.	٥٠% من إحتياج النبات النتروجينى James, 2000
Herbaspirillum seropedicae	قصب السكر	- فى ، أو بين ، خلايا البشرة والقشرة فى الجذور . - بالأوعية الناقلة بالسيقان والجذور	٥٠% من إحتياج النبات النتروجينى Baldani *et al*, 1997
H. seropedicae	الذرة السورجم	بين خلايا البشرة والقشرة بالسيقان	-

• يسمى الأن *Gluconacetobacter diazotrophicus*

العوامل المحددة لتواجد بكتريا الاندوفايت :

Factors affecting colonization of bacterial endophytes

تتأثر درجة كفاءة بكتريا الاندوفايت على الدخول بالنبات العائل ، وعلى التواجد بداخله ، على مجموعة من العوامل ، منها الحيوى Biotic ، ومنها غير الحيوى Abiotic .

أ – العوامل الحيوية

تتعلق العوامل الحيوية ، بالكائنات الدقيقة أو الكبيرة المحيطة بالنبات العائل ، ومن هذه العوامل

١ – الكائنات الدقيقة المتعايشة مع النبات : Plant-associated microorganisms

تتأثر كفاءة دخول ، ومدى تواجد ، بكتريا الاندوفايت بالنبات العائل ، على مايوجد من كائنات دقيقة بمنطقة ريزوسفير النبات العائل ، أو بداخل نفس النبات ، فوجود هذه الكائنات الدقيقة مع بعضها ، يؤدى الى قيام علاقات تعاون أو تنافس بينها وبين بكتريا الاندوفايت ، تشجع أو تُحد من تواجد ونشاط بكتريا الاندوفايت . على سبيل المثال ، فقد لوحظ أن عدوى جذور نبات الفاصوليا بفطر *Rhizoctonia solani* ، شجع على دخول وتوطن بكتريا الاندوفايت التابعة لأجناس *Enterobacter & Pseudomonas* ، كما وجد أن عدد بكتريا الاندوفايت بساق نبات الذرة يزداد ، كلما قل عدد الفطريات الداخلية بالنبات (Ryder *et al* 1997) .

٢ – النيماتودا المتطفلة على النبات : Plant-parasite nematodes

تؤدى إصابة النيماتودا للنبات ، الى زيادة أعداد الاندوفايت به ، حيث تعمل الثقوب النباتية الناتجة عن الإصابة بالنيماتودا ، كمنافذ لدخول بكتريا الاندوفايت بالنبات .

ب – العوامل غير الحيوية

تتعلق العوامل غير الحيوية ، المؤثرة على دخول وتواجد بكتريا الاندوفايت بالنبات العائل ، على خصائص التربة الفيزيائية والكيميائية ، النامى بها النبات ، ويتضمن ذلك قوام التربة وملوحتها ودرجة حموضتها ، حيث تتأثر البكتريا الموجودة بالتربة والبكتريا الموجودة بمنطقة ريزوسفير النبات ، بتلك الخصائص من التربة ، وعلى هذه الخصائص يتحدد أنواع البكتريا التى يمكنها دخول النبات العائل والعيش به .

استخدام بكتريا الاندوفايت كلقاح حيوى

بعد أن عرفت أهمية بكتريا الاندوفايت للنبات العائل ، بما تثبته من نتروجين [أنظر جدول ٧ (٣) – ٢] ، وبما تفرزه من مواد مشجعة لنمو النبات ، وبما تنتجه من مضادات للمسببات المرضية ، فقد بدأ استخدام بكتريا الاندوفايت كلقاح حيوى (Sturz *et al* 2000) ، حيث تنمى السلالات البكتيرية الفعالة فى بيئة مزرعية ، ثم يحمل النمو الناتج على حامل مناسب ، ويضاف الى ريزوسفير أو فيللوسفير النبات ، أو تلقح به البذور عند زراعتها .

المراجـــع

References   مراجع الاندوفايت

Baldani, J.I.; L. Caruso; V.L.D. Baldani; S.R. Goi and Johanna Dobereiner (1997). Recent advances in biological nitrogen fixation with non-legume plants. **Soil Biol. Biochem. 29: 911-922.**

Boddey, R.M.; O.C. Olivera; S. Urequiaga; V.M. Reis; F.L. Olivera; V.L.D. Baldani and Johanna Dobereiner (1995). Biological nitrogen fixation associated with sugar cane and rice. Contributions and prospective for improvement. **Plant & Soil, 174: 195-209.**

Elbeltagy, A.; Kiyo Nishioka; T. Sato; Hisa Suzuki; Ben Ye ; K. Yuhashi; H. Mitsui and K. Minamisawa (2001). Endophytic colonization and nitrogen fixation in rice by *Herbaspirillum* sp. associated from wild rice. **Min. J. Agric. Res. 26 : 13-32.**

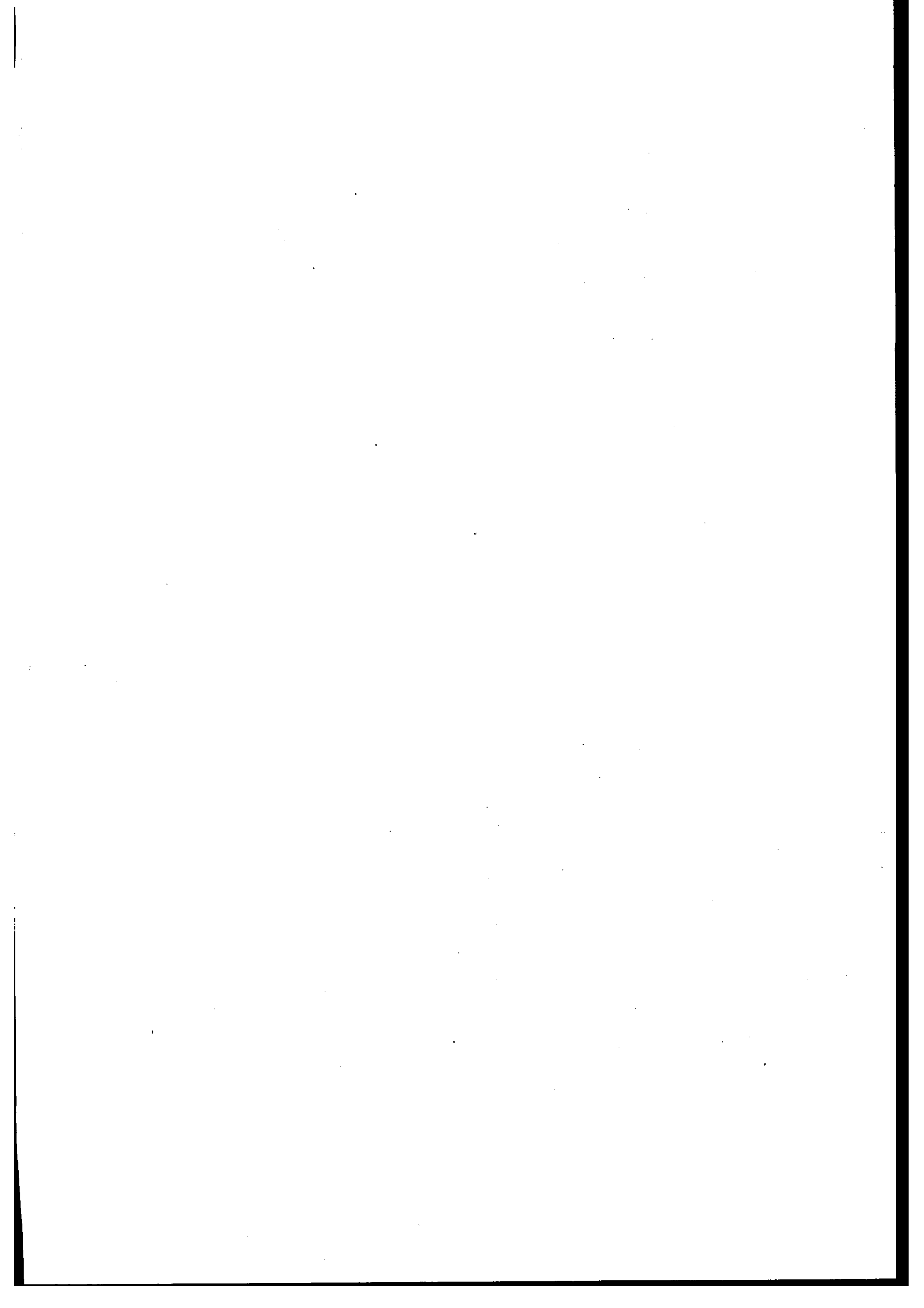
Hallmann, J.; A. Quadt-Hallmann; W.F. Mahaffee and J.W. Kloepper (1997). Bacterial endophytes in agricultural crops. **Can. J. Microbiol., 43: 895-914.**

James, E.K. (2000). Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis. **Field Crop Research 65: 197-209.**

Reinhold-Hurek, B. and T. Hurek (1998). Life in grasses: Diazotrophic endophytes. **Trends Microbiol., 6: 139-144.**

Ryder, M.H.; P.M. Stephens and G.D. Bowen (1997). Improving Plant Productivity in Rhizosphere Bacteria. CSIRO, Sydney, Australia.

Sturz, A.V.; B.R. Christie and J. Nowak (2000). Bacterial endophytes: Potential role in developing sustainable systems of crop production. **Critical Rev. Plant Sci., 19: 1-30.**



فهرس الأسماء العلمية الواردة بالباب السابع

SCIENTIFIC NAMES INDEX (Ch. 7)

(مرتبة من اليمين إلى اليسار)

A

B

C

M

N

O

P

U

T

X

Y

Z

V

W

(الباب الثامن)

الوراثة البكتيرية

Bacterial genetics

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة

(الباب الثامن – الفصل الأول)

الوراثة فى البكتريا

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة

المحتويــات

الموضوع	الصفحة

﴿الباب الثامن - الفصل الأول﴾
الوراثة فى البكتريا* Genetics in Bacteria

بداية علم الوراثة

تعتبر دراسة وراثة الكائنات الدقيقة وخصوصا الكائنات بدائية النواه Procaryotes ، من الدراسات العلمية الحديثة ، وهذه الدراسة رغم حداثتها ، إلا أنها أسهمت بقدر كبير فى تفهم علم الوراثة فى الكائنات الأكثر رقيا ، كما أن نتائج الدراسات فى علم الوراثة البكتيرية أحدثت تطورا كبيرا فى كل العلوم البيولوجية ، فقد أسهمت فى إرساء معالم البيولوجيا الجزيئية Molecular biology والوراثة الجزيئية Molecular genetics ، حيث ساعدت الدراسات الوراثية على البكتريا ، فى معرفة التركيب الجزيئى للجينات ، والشفرة الوراثية ، والاساس الجزيئى للطفور ، وطرق عمل العوامل المطفرة ، وبالتالى فان ظهور علم الهندسة الوراثية وتقدمه ، قام على أكتاف دراسة الوراثة فى الكائنات الدقيقة ، وخاصة فى البكتريا .

ولقد كانت بداية دراسة وراثة البكتريا ، وبالتالى تفسير التغيرات المختلفة التى تحدث لأى نوع منها ، هى الدراسة التى أجراها Griffith عام ١٩٢٨ ، والتى قام فيها بدراسة على بكتريا *Streptococcus pneumoniae* المسببة للالتهاب الرئوى . فقد لاحظ أن لهذه البكتريا طرازين ، الأول يكون مستعمراتا ناعمة Smooth (S) معلبة ، والأخر يكون مستعمراتا خشنة Rough (R) غير معلبة ، وإن الطراز الأول (الناعم) يسبب المرض ، بينما الثانى (الخشن) غير ممرض . وتختلف الأفراد من بكتريا الالتهاب الرئوى الناعمة (S) عن بعضها سيرولوجيا وكيميائيا فى تركيب العلبة ، وتقسم على هذا الأساس إلى سلالات .

وعندما حقن Griffith فئران التجارب بالسلالة A من الطراز الناعم (S) فإن الفئران ماتت ، وعندما تم حقنها بنفس السلالة المقتولة بالغليان فإنها لم تتأثر . وبالمثل ، فإنه عند حقن الفئران بالسلالة (B) من الطراز الخشن (R) فإنه لم يظهر عليها أى أعراض ، وعندما خلط السلالة (A) الناعمة المقتولة حراريا مع السلالة B الخشنة الحية ، فإن الفئران ماتت ، وعندما عزل منها البكتريا وجد أنها من السلالة (A) حية ناعمة (S) ، ومعنى هذا أن شيئا ما من السلالة (A) الميتة قد أحدث تحولا Transformation للسلالة (B) الحية الخشنة ، فحولها الى ناعمة (S) ولكن من نوع السلالة (A) . وهذه كانت أول دراسة تثبت انتقال مادة ما من سلالة ميتة ، الى سلالة أخرى حية ، وتحدث بها تحولا وراثيا .

ولقد كانت دراسة Griffith بداية لدراسات قام بها Avery, MacLeod and McCarty ، حيث تمكنوا عام ١٩٤٤ من إثبات أن المادة التى أحدثت التحول هى عبارة عن الدنا ، DNA ، وذلك من خلال فصل مكونات الخلايا (S) المقتولة إلى مكوناتها ، ودراسة كل مكون على حده لمعرفة عامل التحول ، وسوف نناقش ذلك بتفصيل أكثر فى موضوع التحول الوراثى ، بالفصل الثانى من هذا الباب .

---

* راجع المادة النووية وتضاعف النواه والبلازميدات فى باب ٥ ، فصل ٣ .

أهمية البكتريا فى الدراسات الوراثية

دراسة وراثة البكتريا كما ذكر سابقا ، فتحت الطريق لدراسة وراثة الكائنات الأخرى الأكثر رقيا ، وإعتبرت البكتريا أداة فى غاية الأهمية لفهم علم الوراثة وتطويره ، وذلك لأسباب كثيرة نذكر منها مايلى

١ - تتميز البكتريا بصغر الحجم ، مما يمكننا من جمع عدد كبير من الأفراد فى حيز صغير ، وهو مالايمكن حدوثه فى حالة استخدام النباتات أو الحيوانات أو البشر ، إذ أنه من الممكن وضع ملايين الأفراد من البكتريا مثلاً فى انبوبة اختبار لدراسة الطفرات ، ومعدل الطفور ، بينما يكون ذلك أصعب فى غير البكتريا من الكائنات .

٢ - تتميز البكتريا بأنها كائنات وحيدة الخلية ، طرق تكاثرها بسيطة ، وهذا يساعد فى تتبع أى تغيرات وراثية أو فسيولوجية ، فمثلاً اذا حدثت طفرة فى خلية من خلايا الانسان ، فإنها لاتظهر على جسمه ككل ، وقد لاتظهر أبداً فى الأجيال التالية مالم تحدث فى خلية جنسية ، وعلاوة على ذلك ، فأن حدوث طفرة لخلية جنسية لأحد الأباء ، قد لايظهر أثرها على النسل إلا فى أجيال تالية تحتاج لوقت طويل لتتبعها . أما فى البكتريا فان حدوث طفرة فى خلية ، ينعكس مباشرة على نسل هذه الخلية ، ويمكن تتبعه بسهولة وبسرعة .

٣- من السهل الحصول على خط سلالى نقى Pure line* من البكتريا للدراسات الوراثية ، وذلك بعزل خلية واحدة Single cell أو جرثومة واحدة ، وتنميتها وإكثارها فى مزرعة نقية ، بحيث لاتتداخل الاختلافات بين الأفراد فى الدراسات الوراثية ، وذلك على خلاف مايحدث فى حالة الكائنات الأرقى ، التى من الصعب الحصول منها على سلالة نقية .

٤- قصر عمر الجيل Generation time بالبكتريا ، يسهل دراسة الانعزالات ، وتفهم التغير الذى يحدث فى الصفات الوراثية ، وتتبع الطفرات الناتجة .

٥- الكائنات بدائية النواه Prokaryotes كالبكتريا ، تتميز بأن لها كروموسوما واحداً (أى أنها أحادية المجموعة الكروموسومية Haploid) ، وهذا يسهل ظهور الطفرات ، وحدوث الانعزالات .

٦- يعتبر التكاثر الخضرى هو طور التكاثر الأساسى فى البكتريا ، وهذا يمنع التداخلات الناتجة عن التكاثر الجنسى فى الدراسات الوراثية .

٧- الكروموسوم الوحيد للبكتريا (الجينوم البكتيرى Bacterial genome) دائرى ، وغير محاط بغشاء نووى ، وغير مرتبط ببروتين ، وبالتالى فإنه سهل الفصل والتنقية ، ويمكن فصله بأقل قدر من التغير والتكسير ، مما يسهل دراسة صفاته الكيميائية والفيزيائية ، ودراسة تأثير مختلف العوامل عليه ، وهذا الأمر هو الذى سهل التطور الضخم الذى حدث فى علم الوراثة الجزيئية .

---

* خط الخلايا Line of cells ، هو مجموعة من الخلايا المتماثلة ، المشتقة من خلية واحدة ، وذات نمط ظاهرى مغاير عن الأفراد الأساسية التى من نفس النوع .

٨- تتميز البكتريا الدقيقة بأنه من السهل تتبع التغيرات الكيميائية والانزيمية فيها ، كما يمكن عزل عدد كبير من المركبات الوسطية الداخلة فى أيضها الغذائى ، وعزل الانزيمات منها بسهولة ، مما يسهل تتبع التغيرات التى تحدث فى النشاط الحيوى بالبكتريا نتيجة لتغير العوامل الوراثية .

٩- يمكن بسهولة عزل الطفرات الغذائية Nutritional mutants من البكتريا ، وهى الطفرات التى تحتاج لأحد الفيتامينات أو الأحماض الأمينية أو عوامل النمو الأخرى ، والتى لم تكن السلالة الأصلية تحتاج اليها (طفرات العوز الغذائى Auxotrophic mutants ، (أنظر ص ٥٦٧) .
كما يمكن بسهولة عزل طفرات غذائية مختلفة لنفس العنصر الغذائى ، وهى الطفرات التى تحتاج لنفس العنصر الغذائى ، إلا أنها تختلف فى المنطقة من الكروموسوم التى حدثت فيها الطفرة ، ومثل هذه الطفرات ساعدت كثيرا فى تتبع المسار الأيضى Metabolic pathway لهذا المركب المدروس .
وقد أدى استخدام هذه الطفرات الى تطور ضخم فى مجال الكيمياء الحيوية ، وفى دراسة مسارات الأيض الغذائى المختلفة .

ودراسة وراثة الكائنات الدقيقة لها أهمية كبرى ، ليس فقط فى نواحى العلوم الأساسية بل وفى النواحى التطبيقية أيضا ، فالميكروبات تستخدم فى صناعات لاحصر لها ، مثل انتاج الأحماض العضوية كالستريك واللاكتيك والجلوكونيك والخليك والبروبيونيك ... الخ ، كما تستخدم فى انتاج الكحولات والفيتامينات والهرمونات ، والانزيمات ومنظمات نمو النباتات ، والمضادات الحيوية ، كما أن المجال مفتوح بلا حدود ، لانتاج مركبات جديدة ، أو لتحسين انتاج المركبات المختلفة من خلال الهندسة الوراثية .

كما أن تفهمنا لوراثة الكائنات الدقيقة ، يفيد فى المحافظة على السلالات الهامة صناعيا ، ومنع تكوين طفرات غير مرغوب فيها ، كما يمكن من خلال الاتحادات الوراثية والتهجين والانتخاب ، واستخدام العوامل المطفرة ، الحصول على سلالات ذات صفات مرغوب فيها من الناحية التطبيقية .

دقة بناء الدنا (DNA) وتصحيح أخطاء التضاعف

من المعروف أن أى خطأ يحدث فى بناء الدنا يسبب طفرة ، ومن المعروف أيضا أن معدل الطفور الذاتى فى الكائنات الحية منخفض جدا يصل الى ١٠$^{-٧}$ - ١٠$^{-١٠}$ خطأ بكل زوج من القواعد ، بمعدل ١٠$^{-٦}$ فى الجين مع كل دورة تضاعف للخلية . وترجع هذه الدقة فى بناء الدنا ، إلى أن إنزيم DNA polymerase ، تكون أمامه فرصتين لدقة إضافة القاعدة الصحيحة .

الفرصة الأولى ، قائمة على تكامل الوحدات بين السلسلتين ، حيث A يقابلها T و G يقابلها C ، مع استخدام السلسلة الأخرى كطابعة (قالب) .

أما الفرصة الثانية ، فترجع الى وجود نشاط لنظام إنزيمى خاص يسمى نظام انزيم مراجعة خطأ القراءة Proofreading enzyme ، وهو مرتبط بانزيم DNA polymerase III . فعلاوة

على إدخال القواعد فى السلسلة المتكونة ، فإن DNA polymerase يحتوى على انزيم 5 exonuclease → 3 ، يمكنه إزالة أى نيوكليوتيده خاطئة واستبدالها بالنيوكلوتيدة الصحيحة . أما إنزيم مراجعة خطأ القراءة ، فإنه يبدأ عمله إذا ماأدخلت قاعدة غير صحيحة ، حيث أن وجود هذه القاعدة غير الصحيحة ، يخلق حالة من عدم الاستقرار فى إزدواج القواعد ، ولايسمح نظام المراجعة فى هذه الحالة ، ببقاء القاعدة غير الصحيحة فى موضع نشاط إنزيم DNA polymerase ، وهذا يعطى الوقت الكافى لإنزيم Exonuclease ليؤدى عمله فى إزالة هذه القاعدة غير الصحيحة ، وإعطاء الإنزيم فرصة ثانية لإدخال القاعدة الصحيحة .

ونظام المراجعة هذا ، يوجد فى كل من الخلايا بدائية النواة ، وحقيقية النواة ، وفى الفيروسات المكونة من DNA . وعلاوة على عمل إنزيم Exonuclease فى نظام المراجعة ، فانه يوجد أيضا إنزيم Endonuclease الذى يستطيع إزالة القاعدة الخطأ بعد أن يكون DNA polymerase قد ترك المنطقة التى بها الخطأ . وتكامل عمل Endonuclease مع Exonuclease فى نظام المراجعة، يجعل التضاعف خاليا من الخطأ تقريبا فى هذا الجزىء الطويل جدا ، وهو جزىء الدنا .

البلازميدات (*) والوراثة ومقاومة العوامل المضادة

توجد البلازميدات خارج الكروموموسوم ، ملتصقة بـه أو بعيدة عنـه ، وتحتوى البلازميدات على الدنا DNA ، ويمكن لهذه البلازميدات أن تتضاعف وأن تتكرر مستقلة عن الكروموسوم الأصلى ، وهى تحمل بعض الصفات الوراثية ، مثل جينات التحكم فى الاتحادات الوراثية ، وجينات المقاومة للمضادات الحيوية ، وغيرها من العوامل المثبطة للبكتريا ، كما أن شعيرات الجنس Six pili تعمل على انتقال بلازميدات الجنس من خلية لأخرى ، ومن الشعيرات مايعمل أيضا على انتقال بلازميدات المقاومة .

ويجب أن نشير الى أن صفة المقاومة للمضادات الحيوية عادة مايحكمها بلازميد ، وفى بعض الأحيان قد يحكمها الكروموسوم ، ولكن ميكانيكية المقاومة تختلف فى كل حالة عن الأخرى .

فالمقاومة التى يحكمها الكروموسوم ، تتم نتيجة لحدوث تعديل فى الموقع الذى يؤثر فيه المضاد الحيوى . أما المقاومة التى تعود للبلازميد ، فإنها تعود الى وجود جين بالبلازميد ، يتحكم فى إنتاج انزيم يفسد عمل المضاد الحيوى ، أو تعود الى وجود جين بالبلازميد يُكوِّن إنزيما يمنع دخول المضاد الحيوى الى داخل خلية البكتريا ، أو يعمل على ضخه إلى خارجها ، ومثالا على ذلك ، فإنه بالنسبة للمضادات الحيوية التابعة لمجموعة Aminoglycoside مثل Kanamycin, Neomycin & Streptomycin ، فإن الإنزيم الذى يحكمه البلازميد ، يؤدى الى حدوث تعديل فى جزىء المضاد ، إما بالفسفرة Phosphorylation (إضافة مجموعة فوسفات) ، أو بالأستلة Acetylation (إضافة مجموعة اسيتايل $CH_3 - CO$) أو الأدينلة Adenylation (إضافة مجموعة أدينايل N Base-Ribose-P) ، مما يثبط عمل المضاد الحيوى .

(*) راجع تركيب الخلية البكتيرية والبلازميدات بالباب الخامس ، الفصل الثالث .

وكمثال أخر ، فإن بلازميد المقاومة لمضاد البنسلين ، يحكم تكوين إنزيم البنسلينيز Penicillinase, β-lactamase ، الذى يحلل البنسلين عن طريق تحليل حلقة اللاكتام التى بالمضاد ، وكذلك بلازميد المقاومة لمضاد الكلورامفينيكول ، فإنه يحكم تكوين إنزيم يسبب حدوث أستلة لجزىء المضاد ، مما يوقف نشاطه .

وتلعب البلازميدات دورا فى زيادة القدرة الإمراضية للبكتريا المرضية ، بزيادة قدرة البكتريا على الالتصاق والنمو فى الجزء المناسب من العائل ، أو بتكوين مركبات مثل الانزيمات والتوكسينات والكوليسينات ... الخ ، التى تحدث ضررا للعائل .

وكمثالا على ذلك ، فإن قدرة بكتريا القولون الممرضة Enteropathogenic *E. coli* على استعمار (استيطان) Colonization خلايا العائل والتكاثر بها ، تتوقف على وجود بروتين سطحى بالبكتريا يسمى أنتجن عامل الاستيطان Colonization factor antigen, CFA يحكمه بلازميد بالبكتريا ، وهذا العامل يعطى خلية البكتريا القدرة على الإلتصاق بخلايا الطبقة الطلائية Epithelial cells فى الأمعاء ، وعلاوة على ذلك فإن البلازميد يحكم تكوين نوعين على الأقل من التوكسينات التى تكونها البكتريا ، وهما Hemolysin الذى يحلل كرات الدم الحمراء ، و Enterotoxin الذى يؤدى إلى تنشيط افراز المياه والأملاح من الأمعاء إلى البراز أى حدوث الإسهال . ويلاحظ أن هناك عوامل أخرى ترتبط بالضراوة الامراضية فى *E. coli* يحكمها الكروموسوم .

وفى البكتريا العنقودية *Staphylococcus aureus* المسببة للتسمم العنقودى ، فإن تكوين كل من Coagulase , Enterotoxin, Fibrinolysin & Hemolysin ، يحكمها البلازميد.

ومن ناحية أخرى ، فإن قدرة بعض أنواع البكتريا على تكوين البكتريوسينات Bacteriocins يحكمها بلازميدات . والبكتريوسينات عبارة عن عوامل تثبط أو تقتل أنواعا قريبة أو حتى سلالاتا قريبة من النوع المفرز . وهذه الصفة تميز البكترويوسينات عن المضادات الحيوية التى لها مدى تأثير أوسع ، ويحكم تكوين البكتريوسينات بلازميدات خاصة ، فمثلا الكوليسينات Colicins التى تكونها *E. coli* يحكمها Col plasmid ، والسابتلين Subtilin الذى تنتجه بكتريا *B. subtilis* يحكم انتاجه بلازميد خاص . . وهكذا .

تركيب ووظيفة الرنا RNA*

هناك ثلاثة أنواع من الرنا هى

١- **الرنا الرسول mRNA** ، Messenger RNA ، وهو الذى يحمل الرسالة الخاصة ببناء البروتين من الدنا ، من خلال عملية الاستنساخ Transcription .

٢- **الرنا الناقل tRNA** ، Transfer RNA ، وهو المسئول عن حمل الأحماض الأمينية بترتيب الرسالة التى يحملها mRNA ، ليتم بناء البروتين على الريبوسومات ، وبالطبع فإن لكل حامض أمينى رنا ناقل أو أكثر خاص به ، وقد يسمى الرنا الناقل ، بالرنا الذائب sRNA ، Soluble RNA .

٣- **الرنا الرايبوسومى rRNA** ، Ribosomal RNA ، وهو المكون الأساسى للرايبوسومات التى يتم عليها بناء البروتين .

* أنظر أنواع حامض الرنا ، ص ٧٠٧ ومايليها .

وبصرف النظر عن نوع الرنا ، فانه يختلف فى تركيبه عن الدنا فى الآتى
١-يحتوى الرنا على سكر الرايبوز ، بدلا من الديزوكسى رايبوز الموجود فى الدنا .
٢-يحتوى الرنا على قاعدة اليوراسيل Uracil ، بدلا من قاعدة الثايمين Thymine الموجودة فى الدنا.
٣-فيما عدا بعض الفيروسات ، فإن الرنا لايوجد فى سلاسل مزدوجة الخيوط .
يقوم الرنا بدوره على مستويين - المستوى الأول وهو المستوى الوراثى Genetical ، والثانى وهو المستوى الوظيفى Functioinal .
بالنسبة للدور الوراثى للرنا ، فإنه (mRNA) يحمل المعلومات الوراثية من الدنا ، كما يلعب الرنا RNA فى الفيروسات المكونة من الرنا الدور الوراثى مباشرة .
أما على المستوى الوظيفى ، فيعتبر الرنا (rRNA) أحد الجزيئات المعقدة التى لها دور تركيبى فى بناء الرايبوسومات ، كما أن للـ tRNA دور كناقل للأحماض الأمينية فى بناء البروتين ، كما أن لبعض جزيئات الرنا دور انزيمى .

الاستنساخ : Transcription *

توجد علاقة بين مرحلتى النسخ والترجمة . وتتم عملية النسخ والترجمة فى البكتريا فى أن واحد لعدم وجود غشاء نووى يحيط بالمادة الوراثية ، بعكس حقيقيات النواة التى تتم فيها العمليتين على مرحلتين ، لوجود غشاء نووى يحيط بالمادة الوراثية ، ويتم نسخ الرنا الرسول من شريط الدنا فى اتجاه ٣⁻ ← ٥⁻ ، لتكوين الرنا الرسول فى اتجاه ٥⁻ ← ٣⁻ .
ويتم استنساخ المعلومات الوراثية من الدنا DNA الى الرنا RNA من خلال إنزيم RNA polymerase ، الذى ينشط تكوين روابط Phosphodiester بين الرايبونيوكليوتيدات ، ويتطلب هذا الانزيم لعمله وجود الدنا الذى يعمل كقالب للرنا . كما يتطلب توفر رايبونيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات (ATP, GTP, UTP, CTP) ، وعملية البناء تشبه ميكانيكية بناء الدنا ، حيث تضاف القواعد الجديدة فى السلسلة لمجموعة OH فى الوضع ˋ3 فى الرايبوز الذى فى القاعدة السابقة ، حيث يتحدا مع فقد مجموعتى فوسفات غنية بالطاقة , وتختلف العملية عن بناء الدنا فى أن RNA polymerase ، يمكنه بدأ تكوين السلسلة ، وبالتالى لايحتاج الى بادىء (مادة ممهدة) Primer ** .
ويلاحظ أن أول قاعدة فى سلسلة الرنا دائما تكون قاعدة بيورين ، إما أدينين أو جوانين .
ورغم أن الدنا الذى يعمل كقالب لبناء الرنا يكون مزدوج السلسلة ، إلا أن سلسلة واحدة من الدنا هى التى تعمل كقالب للاستنساخ .
وتركيب إنزيم RNA polymerase فى البكتريا معقد ، يتكون من عدد من الوحدات الفرعية . وفى الإنزيم الموجود فى *E. coli* ، يوجد أربعة أنواع مختلفة من الوحدات البروتينية تسمى α و σ و β و ˋβ والوحدة α (ألفا) يوجد منها نسختين ، وتتحد الوحدات المختلفة مع بعضها لتكوين الانزيم النشط ، بينما نجد أن الوحدة σ (سيجما Sigma) لاترتبط بشدة مع الوحدات الأخرى وتنفصل عنها بسهولة ، مما يؤدى الى وجود مايسمى بمركز الانزيم Core enzyme ($\alpha_2 \beta \beta'$) ، هذا المركز يمكنه وحده بناء الرنا ، أما الوحدة σ فإن وظيفتها هى التعرف على المكان الصحيح فى الدنا الذى يبدأ منه استنساخ الرنا .

---

* راجع التخليق الحيوى للإنزيمات بالباب التاسع - الفصل الثالث ، ص ٧٠٣ ومابليها .

** أنظر تذييل ص ٦٢٧ .

وإنزيم RNA polymerase جزىء بروتينى كبير الحجم ، ويرتبط مع الدنا فى عدة قواعد فى وقت واحد . ويتم الارتباط بين الانزيم والدنا فى موضع محدد هو منطقة الجين المحرض (البروموتور Promotor) ، ويقع البروموتور قرب الجين العامل (الأوبرون) . وعندما يتصل الإنزيم بالمنطقة الملائمة على الدنا عند البروموتر ، ينشط الأوبرون ، وينفتح اللولب المزدوج ، ومع تحرك الإنزيم ، يقوم الإنزيم بفك الدنا فى أجزاء صغيرة ، ويتم استنساخ هذه الأجزاء ثم يعاد ربط السلسلتين المزدوجتين ، وتساعد عملية الفك على تحرير القواعد ، مما يساعد على تكون رنا مكمل لها .

وهناك نظام حيوى لإنهاء عملية الاستنساخ وهو عبارة عن تركيب بروتينى يسمى عامل رو Rho factor [1]، ولايتحد هذا العامل مع RNA polymerase أو مع الدنا ، ولكنه يساعد على فصل الـ m-RNA مع انزيم RNA polymerase من الدنا ، مما ينهى عملية الاستنساخ . وفى كل الأحوال ، فإن انهاء الاستنساخ يرتبط بتتابعات خاصة فى الدنا .

ويوضح شكل [٨ (١) -١] خطوات عملية الاستنساخ .

الترجمة – بناء البروتين : Translation - Protein synthesis

تتابع الأحماض الأمينية هو الذى يحدد تركيب ودور البروتين . وعملية بناء البروتين ماهى إلا عملية وضع الأحماض الأمينية فى مواضعها المحددة فى السلسلة الببتيدية . وهذا هو عمل جهاز بناء البروتين فى الخلية .

والرايبوسومات هى مواقع بناء البروتين ، وكل رايبوسوم مكون من وحدتين ، وهاتين الوحدتين فى بدائيات النواه هما 30S & 50S ، ويكونا معا الرايبوسوم 70S [2] (مع ملاحظة أن 70S, 50S, 30S هى معامل الترسيب [3] Sedimentation coefficient عند استخدام جهاز الطرد المركزى فائق السرعة) .

وكل وحدة من وحدات الرايبوسوم عبارة عن بروتين نووى Nucleoprotein ، أى تتكون من rRNA وبروتين . وتتكون الوحدة 30S من (16S – rRNA) + (بروتين 21S) ، وتتكون الوحدة 50S من (23S - rRNA و 5S) (مع بروتين 32S . وقد وجد أن *E. coli* تحتوى على ٥٣ نوعا مختلفا من البروتين الرايبوسومى . وتلعب مكونات الرايبوسوم دورها فى بناء البروتين بطريقة معقدة .

ورغم أن عملية بناء البروتين تتم بطريقة مستمرة بالخلية ، إلا أنها تتم فى عدة خطوات محددة هى : البدء Initiation ، الاستطالة Elongation ، الانهاء والانفصال Termination-Release ، ثم التفاف السلسلة الببتيدية Polypeptide folding .

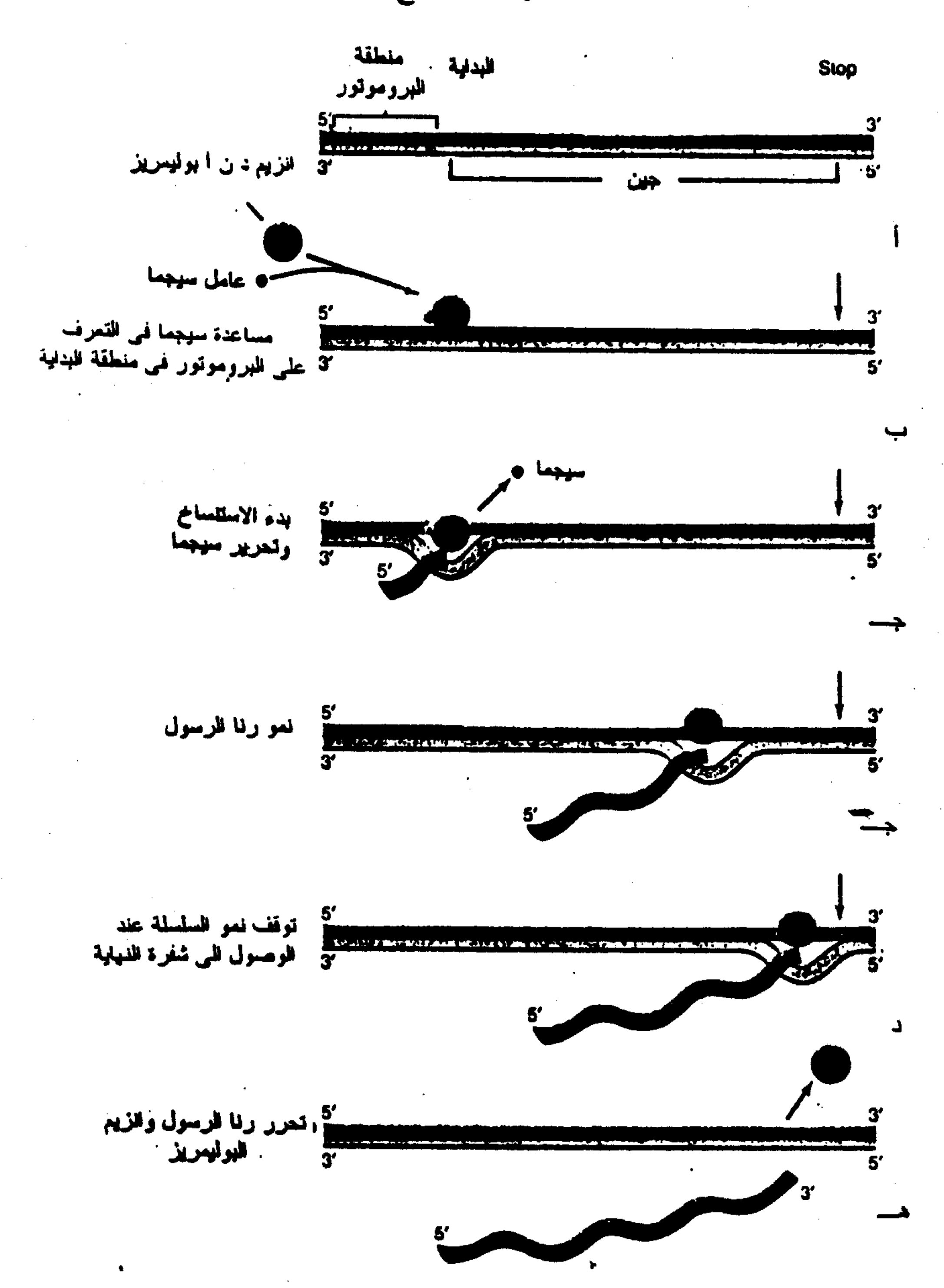
---

(١) عامل رو Rho factor : وحدة بروتينية بالخلية البكتيرية ، تساعد انزيم RNA polymerase على تحديد الموقع بحامض الدنا ، الذى ينتهى عنده استنساخ الرنا الرسول m-RNA .

(٢) أنظر شكل [٥ (٢) - ٢٦] ص ٢٤٩ .

(٣) أنظر وحدات سفدبرج ص ٢٥٠ .

خطوات الاستنساخ



شكل ٨ (١)-١ : خطوات عملية الاستنساخ .

أ - منطقة البروموتر فى الدنا DNA ، تليها منطقة البداية .

ب - قيام الوحدة σ (سيجما) بالتعرف على منطقة البداية .

جـ و جـ - يبدأ انزيم RNA polymerase عمله ويتحرك على سلسلة الدنا لتكوين سلسلة مكملة من الرنا الرسول m-RNA .

د - عندما يصل انزيم RNA polymerase الى كود النهاية ، يتوقف بناء الرنا الرسول حيث انتهت الرسالة .

هـ - يتم انفصال الرنا الرسول والانزيم

وعلاوة على دور كل من tRNA و mRNA والرايبوسـومات فـى عمليـة البنـاء البروتينى ، فإن العملية تتطلب وجود بعض البروتينات التى يطلق عليها عامل البدء ، وعـامل الاستطالة ، وعامل الإنهاء ، كما تحتاج عملية البناء أيضـا الـى Guanosine triphosphate (GTP) كمصدر للطاقة .

البروتينات المؤثرة خارجيا

كثير من البروتينات تعمل خارج الخلية ، ولهذا فلابد أن تجد طريقها من موضع بنائـها بداخل الخلية ، لتمر خلال الغشاء البلازمى الى خارج الخلية . وفى بدائيات النواة Procaryotic microorganisms فإن الإنزيمات البريبلازمية Periplasmic enzymes والإنزيمات الخارجيـة Extracellular تعتبر إنزيماتا مفرزة خارجيا . وفى حقيقيات النواه فإن الإنزيمـات الهاضمـة الموجودة باللايسوسومات Lysosomes [1] ، تعتبر أيضا ضمن هذا النوع من الإنزيمات .

كيف يمكن للخلايا أن تنقل نقلا إنتقائيا بعض البروتينات خلال الغشاء الخلوى ، بينمـا تبقى أغلب البروتينات الأخرى داخل السيتوبلازم ؟ . أن تفسير ذلك يتم مـن خـلال مـايعرف بافتراضية الاشارة Signal hypothesis ، حيث تقول هـذه الفرضيـة ، أن هـذه البروتينـات المطلوب إفرازها خارجيا ، يتم تكوينها بداخل الخلية مع احتوائها على تتابع ببتيدى طولـه ١٥- ٢٠ حامض أمينى ، يسمى تتابع الإشـارة Signal sequence . وفـى هـذا التتـابع ، تسـود الأحماض الأمينية الكارهة للماء Hydrophobic مما يسمح لها بالمرور الى خارج الخلية خـلال الغشاء الخلوى الليبيدى الكاره للماء.

وفى كثير من الأحوال ، فإن الرايبوسومات التى تقوم ببناء البروتينات المفرزة خارجيـا تكـون ملاصقة للغشاء السيتوبلازمى ، بحيث يتم تكوين هذه البروتينات وإفرازها خارجيا فـى وقـت واحد ، وبعد إفراز البروتين خارجيا تتم مباشرة إزالة تتابع الإشارة منه إنزيميا ، ويعتـبر هـذا نموذجا لتعديل البروتين بعد عملية الترجمة Posttranslational modification .

وتعتبر دراسة إفراز البروتين خارج الخلية موضوعا هاما من الناحية التطبيقية ، فـاذا ماتم إجراء هندسة وراثية لبكتريا بغرض إنتاج بروتين غريب ، فإنه من الضرورى إدخال تتابع إشارة فى بناء هذا البروتين ، ليتم إفرازه خارجيا بسهولة .

الشفرة الوراثية : Genetic code

قواعد الشفرة الوراثية هى القواعد النتروجينية التاليـة A: Adenine, G: Guanine, C: Cytosine, U: Uracil ، وللسهولة ، فإنه يتم دائما دراسة الشفرة على الحـامض النـووى حامل الرسالة mRNA وكما يعرف ، فأن الشفرة ثلاثية القواعد [جدول ٨ (١) - ١] ، وعـلاوة على تلك الشفرات التى تحدد أنواع الأحماض الأمينية ، فإن هناك شفرات لها وظائف خاصـة ، منها شفرة بداية البناء AUG ، وشفرات الإيقاف (UAA, UAG, UGA) .

قد يكون لكل حامض أمينى أكثر من شفرة ثلاثية ، وهذا له أهمية علمية وتطبيقيـة ، حيث أن معرفة الحامض الأمينى لايعنى تلقائيا معرفة الشفرة ، أو معرفة موقع الحامض الأمينى فى عملية بناء البروتين ، وتسمى ظاهرة وجود أكثر من شـفرة للحـامض الأمينـى الواحـد Degeneracy ، وتعنى هذه الظاهرة اما :

---

[1] Lysosome . ليسوسوم ، جسيم حال
جسم جيبى مغلف بغشاء ، يوجد بسيتوبلازم الخلايا حقيقية النواة ، وهو يخص الكثير من الإنزيمات المحللة مائيا .
ويلعب الليسوسوم دورا رئيسيا فى عمليات الهضم داخل الخلية .

جدول ٨ (١) - ١ : الشفرة الوراثية كما يعبر عنها بتتابع ثلاث قواعد نتروجينية فى حامض رنا الرسول m-RNA[1]

Codon[2]	Amino acid	Codon	Amino acid	Codon	Amino acid	Codon	Amino acid
UUU	Phenylalanine	CUU	Leucine	GUU	Valine	AUU	Isoleucine
UUC	Phenylalanine	CUC	Leucine	GUC	Valine	AUC	Isoleucine
UUG	Leucine	CUG	Leucine	GUG	Valine	AUG (start)[3]	Methionine
UUA	Leucine	CUA	Leucine	GUA	Valine	AUA	Isoleucine
UCU	Serine	CCU	Proline	GCU	Alanine	ACU	Threonine
UCC	Serine	CCC	Proline	CCC	Alanine	ACC	Threonine
UCG	Serine	CCG	Proline	GCG	Alanine	ACG	Threonine
UCA	Serine	CCA	Proline	GCA	Alanine	ACA	Threonine
UGU	Cysteine	CGU	Arginine	GGU	Glycine	AGU	Serine
UGC	Cysteine	CGC	Arginine	GGC	Glycine	AGC	Serine
UGG	Tryptophan	CGG	Arginine	GGG	Glycine	AGG	Arginine
UGA	None (stop signal)	CGA	Arginine	GGA	Glycine	AGA	Arginine
UAU	Tyrosine	CAU	Histidine	GAU	Aspartic	AAU	Asparagine
UAC	Tyrosine	CAC	Histidine	GAC	Aspartic	AAC	Asparagine
UAG	None (stop signal)	CAG	Glutamine	GAG	Glutamic	AAG	Lysine
UAA	None (stop signal)	CAA	Glutamine	GAA	Glutamic	AAA	Lysine

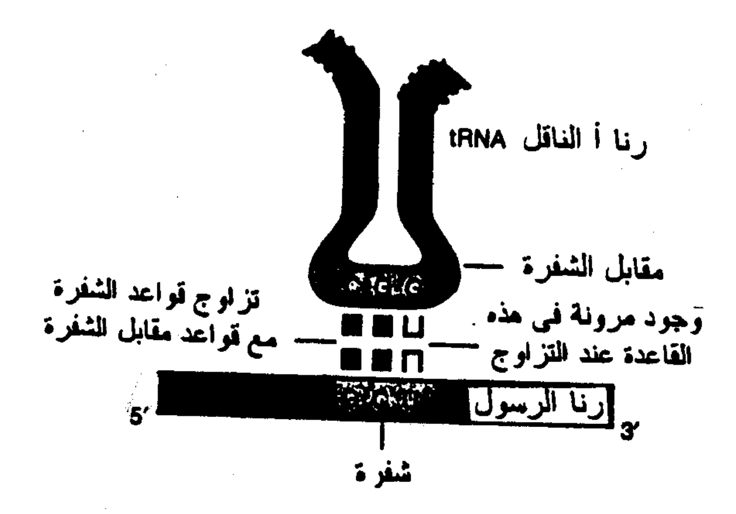
(١) القواعد المذكورة بهذا الجدول مكملة للقواعد الموجودة في حامض الـ DNA بالخلية ، بمعنى أن U فى الجدول مكملة لـ A بحامض DNA الخلية ، C مكملة لـ G و G مكملة لـ C و A مكملة لـ T .

(٢) A : أدينين ، G : جوانين ، C : سيتوزين ، U : يوراسيل

(٣) تشفر القاعدة AUG إلى N-formyl methionine ، الموجودة فى بداية حامض m-RNA بالبكتريا .

١ – أن حامض tRNA الواحد يمكنه أن يتحد مع أكثر من شفرة واحدة .
٢ – أو إنه يوجد أكثر من نوع واحد من tRNA لكل حامض أمينى .

ولقد وجد بالدراسة أن كلا الاحتمالين صحيحا ، فمثلا وجد أن بعض الأحماض الأمينية لها أكثر من tRNA (الحامض الأمينى Leucine فى *E. coli* له ٦ أنواع من tRNA) ، ومع هذا فإنه ليس بالضرورة وجود tRNA لكل مقابل شفرة . ففى بعض الأحيان يكون لجزىء tRNA ازدواج مع قاعدتين فقط فى الشفرة ، مما يجعله لايتأثر بالقواعد غير الطبيعية فى القاعدة الثالثة ، وهذه الظاهرة تسمى ظاهرة Wobble [شكل ٨ (١) – ٢] .



شكل ٨ (١) – ٢ : ظاهرة Wobble الخاصة بتزاوج القواعد ، مع ملاحظة وجود مرونة فى تزاوج القاعدة الثالثة بالشفرة .

لوجود شفرة البداية أهمية كبيرة ، فمع وجود الشفرة الثلاثية فإنه من الضرورى أن تبدأ عملية الترجمة من الموضع الصحيح ، لأنه لو حدث خلاف ذلك ، فان كل إطار القراءة سوف يحدث به إنحراف ، مما يُكوِّن بروتينا مختلفا ، أو حتى لايتكون بروتين بالمره .

وتوجد الشفرات الخاصة بأى بروتين على جزء من الدنا DNA ، وأن هذا الجزء يتم استنساخه الى mRNA ، وأن عملية الاستنساخ تتطلب وجود الجين المحرض (منشط الاستنساخ) Promoter عند نقطة بداية الاستنساخ ، وللتأكد من أن الـ mRNA يحمل الرسالة الخاصة ببناء البروتين ، فلابد أولا أن يبدأ البناء بشفرة البداية AUG ، يليها تتابعات طويلة قبل وجود شفرة الإيقاف ، مثل هذه التتابع فى الـ mRNA يسمى اطار القراءة المفتوح Open reading frame (ORF) ، حيث أن شفرة البداية تبدأ إطار القراءة السليم لعملية الترجمة، وأن شفرة الإيقاف سوف تنتهى الترجمة .

وبتعبير آخر ، فان وجود إطار القراءة المفتوح ORF بالتتابع الشفرى بالدنا وبالتالى فى mRNA ، يعنى أن الجزء الذى تم استنساخه ، ناتج عن جين يحكم بروتين ، إما إذا لم يوجد بالدنا إطار ORF ، فإن ذلك يعنى أن الجزء المستنسخ لايشفر لبروتين ، وكما نعرف فإن الخلايا الراقية تحتوى على أجزاء كبيرة من الدنا لاتحمل شفرة معينة ، ، وتسمى هذه الأجزاء إنترونات Introns (Interventing DNA sequence) ، وهى أجزاء من حامض الدنا ، تنسخ الى حامض دنا نووى ، ولكنها لاتترجم الى أى حامض أمينى أو بروتين .

الطفور والطفرات : Mutations and Mutants

فى بعض الأحيان ، قد يحدث تغيرا فى بعض الصفات ، عند انتقال العوامل الوراثية من الاباء Parents الى النسل Progeny . وترتبط هذه التغيرات بنوعين أساسيين من خصائص الخلية البكتيرية ، هما الطرز (النمط) الجينى Genotype ، والطرز الشكلى Phenotype .

ويرتبط الطرز الجينى للخلية بتركيبها الوراثى ، أى أنه يرتبط بجميع الصفات الموروثة بالخلية ، أما الطرز الشكلى فإنه يعبر عن تأثير الطرز الجينى الذى يظهر على صفات وخصائص الخلية المختلفة ، ويظل الطرز الجينى ثابتا من جيل لآخر ، مالم يحدث له تطفر ، فإذا ماحدث تطفر ، فإن هذا يؤدى إلى حدوث تغير يمكن ملاحظته فى الطرز الشكلى للخلية .

والطفور هو تغير موروث فى تتابع القواعد فى دنا الكائن الحى ، ويسمى التغير الحادث فى ذلك التتابع بطفرة Mutant ، وتسمى السلالة التى حدث فيها هذا التغير بسلالة طافرة Mutant strain ، والسلالة الطافرة بالتالى تختلف عن السلالة الأصلية فى الطرز الجينى Genotype فى منطقة محددة بالجينوم . وحدوث الطفرة يؤدى لظهور الطرز الشكلى Phenotype الذى قد يكون طرزا مختلفا عن طرز السلالة الأصلية أيضا ، وتسمى السلالة الأصلية المعزولة من الطبيعة بالطرز البرى Wild-type , ويلاحظ أن الطفرة قد ينتج عنها أو لاينتج عنها تغيرا فى الطرز الشكلى .

ولتسهيل تسمية وتمييز الطفرات ، فإن الطرز الجينى يرمز له بثلاثة حروف صغيرة متبوعة بحرف كبير (Capital) وكلها حروف مائلة (Italics) ، محددة للجين الذى حدث فيه التغير ، وعلى هذا فإن الطفرة *his C* فى *E. coli* ، تعنى حدوث تطفر فى الجين الرامز للحامض الأمينى الهستدين Histidine فى الموقع الجينى C . وفى بعض الأحوال قد تسمى الطفرة *his C1, his C2* ، والرقم فى هذه الحالة يحدد ترتيب عزل هذه الطفرات .

أما الطرز الشكلى فيحدد بحرف كبير يتبعه حرفين صغيرين مع + أو − ، لتحدد هل الصفة موجودة أم غائبة ، فعلى سبيل المثال فان السلالة His^+ ، تعنى إنها سلالة قادرة على تكوين الهستيدين بنفسها .

قد يحدث تغيرا فى الطرز الشكلى للخلية البكتيرية ، ليس بسبب حدوث تغير فى الطرز الجينى ، ولكن بسبب حدوث تغير فى تركيب البيئة النامية بها الخلايا ، أو فى ظروف نموها ، وهذه التغيرات لاتورث ، لأنها ليست ناتجة عن تغير بالطرز الجينى ، إذ أن الخلية تعود الى طرزها الأصلى ، عند العودة الى ظروف النمو الأصلية .

وجدول [٨ (١) − ٢] يوضح بعض الاختصارات المتداولة الخاصة بالطرز الجينية .

جدول ٨ (١) - ٢ : بعض الرموز المتداولة للطرز الجينية .

الطرز الجينى	الطفـــور	الطرز الجينى	الطفـــور
ala	احتياج الألانين	*met*	احتياج المثيونين
azi	مقاومة الأزيد	*pro*	احتياج البرولين
div	انقسام الخلية	*pur*	تخليق البيورين
fla	تخليق الأسواط	*str*	مقاومة الاستربتومايسين
gal	استخدام الجالاكتوز	*thi*	احتياج الثيامين
his	احتياج الهستيدين	*uvr*	حساسية للأشعة فوق البنفسجية
lac	استخدام اللاكتوز		

عزل الطفرات

يجب أن نفرق بين نوعين من الطفرات ، الطفـــرات الانتقائيـــة Selective mutants ، والطفرات غير الانتقائية Non-selective mutants ، وكمثال للطفرات غـــير الانتقائيـــة تلـــك الطفرات التى تفقد البكتريا الملونة القدرة على تكوين اللون ، ومثل هذه الطفرات ليس لـــها أيـــة ميزة تختلف فيها عن الآباء الملونة عند تنميتها على بيئة الآجار ، وعلى هـــذا فـــإن الطريقـــة الوحيدة للتعرف على هذه الطفرة هى فحص عدد كبير من المستعمرات للوصول الى المســتعمرة الطافرة ، وبهذا فإن الطفرات غير الانتقائية يمكن الوصول إليها بفحص عدد كبير من الأفــراد ، والطرز الشكلى لها قد لايمكن ملاحظته بسهولة .

أما الطفرات الانتقائية ، فإنها تعطى الطفرة ميزة خاصة عندما تنمو تحـــت ظـــروف معينة فى الوسط ، وعلى هذا فإن نسل هذه السلالة الطافرة يمكن أن يتميز فى النمـــو ، ويحـــل محل السلالة الأصلية . ومن أمثلة الطفرات الانتقائية طفرات المقاومة للمضادات الحيوية ، فـــإن الطفرة المقاومة للمضادات الحيوية ، يمكنها النمو فى وجود المضاد الحيوى عند تركيز مثبط أو قاتل للسلالة الأصلية ، وعلى هذا ، فإنه من السهل التعرف علـــى الطفـــرة وعزلـــها باختيـــار الظروف الملائمة فى وسط النمو . ويعتبر وجود عامل انتقائى ، أمـــر هـــام فـــى الدراســـات الوراثية ، حيث يسمح بعزل الطفرة حتى ولو كانت على مستوى خلية واحدة ، من بين الملايين من خلايا السلالة الأصلية .

وعلى هذا ، فإنه مالم تكن الطفرة انتقائية ، فإن التعرف عليها يصبح صعبا ، وتحتاج إلى مـــهارة كبيرة لتتبعها وعزلها .

ومن الناحية النظرية ، فإن أى صفة فى الكائن يمكـــن تغيرهـــا بـــالطفور ، ويمكـــن ملاحظة الطفرات الغذائية باستخدام طريقة الاستنســـاخ بواســـطة الأطبـــاق Replica plating technique ، حيث تستخدم قطعة مستديرة من قماش القطيفة لعمل طابعـــة مـــن المســـتعمرات النامية بالطبق الأساسى Master plate ، ثم يطبع منها على طبق آجار خال من المـــادة الغذائية المراد معرفة الطفرة الغذائية الخاصة بها ، فبينما تنمو مستعمرات السلالة الأصلية طبيعيا ، فإن مستعمرة السلالة الطافرة لاتنمو ، ويظهر مكانها خاليا من النمو فى الطبق الخالى مـــن المـــادة الغذائية ، وبالتالى يمكن تحديد موضعها على الطبق الأصلى وعزلها ، والطفرة الغذائيـــة التـــى تحتاج لمركب غذائى معين ، تسمى طفرة زائدة الاغتذاء Auxotroph ، بينما السلالة البريـــة

التى لاتحتاجه تسمى أولية التغذية Prototroph .

وعادة مايسبق اسم سلالة الطفرة زائدة الاغتذاء ، رمز من ثلاث حروف يدل على المادة التى فقدت السلالة الطافرة القدرة على تمثيلها نتيجة التطفر ، وأصبحت تحتاج اليها بالبيئة لكى تنمو ، مثل *E. coli* lac⁻ ، وهذا الرمز يعنى أن هذه البكتيرة فقدت القدرة على تخليق انزيم اللاكتيز .

وهناك طريقة تستخدم بكثرة لعزل الطفرات الغذائية التى تحتاج إلى أحماض أمينية أو عوامل نمو Growth factors ، وهى طريقة الانتخاب بالبنسلين Penicillin-selection method . فمن المعروف أن الطفرات الغذائية تكون أقل قدرة من السلالة الأصلية ، حيث لاتستطيع الطفرات أن تتنافس مع السلالات الأصلية عند التنمية العادية . ولكن نظرا لأن البنسلين يقتل الخلايا النامية فقط ، فإنه إذا أضيف البنسلين للبكتريا النامية فى البيئة الخالية من المادة الغذائية المطلوب عزل الطفرات الخاصة بها ، فإن الخلايا العادية تنمو فيقتلها البنسلين ، أما الطفرة فإنها لاتنمو فى غياب المادة الغذائية وبالتالى لاتتأثر بالبنسلين ، وعلى هذا فإنه بعد التحضين فى وجود البنسلين ، يتم التخلص من السلالات الأصلية ، وتجرى التنمية فى وجود المادة الغذائية فتنمو الطفرات التى لم يؤثر عليها البنسلين ، وبالتالى فإن البنسلين يعتبر عامل انتقائى سلبى حيث إنه لايعمل كعامل انتقائى للطفرات ، وإنما كعامل مضاد للسلالة الأصلية .

التغيرات فى الطُرُز الشكلية التى تحدث بسبب التطفر

تحدث التغيرات فى الطُرُز الشكلية للبكتريا ، نتيجة للتطفر الذى حدث بالطرز الجينى للخلية ، **ومن مظاهر الطُرُز الشكلية للطفرات الناتجة مايلى**

١ – طفرات ذات مقاومة عالية للعوامل المثبطة لنموها ، مثل الطفرات المقاومة للمضادات الحيوية والعقاقير الكيميائية ، ولهذه الطفرات أهمية من الناحية المرضية والعلاجية .

٢– طفرات ذات قدرات تخميرية عالية ، يمكنها أن تزيد (أو تنقص) من نواتج التخمر النهائية لبعض المواد ، ولهذه الطفرات أهمية من الناحية الصناعية .

٣– طفرات فقدت القدرة على انتاج بعض انزيمات الأيض الغذائى .
ولهذه الطفرات أهمية فى دراسة عمليات التمثيل الحيوى ، وتتابع عمليات الأيض الغذائى .

٤– طفرات زائدة الاغتذاء Auxotrophic mutants عن السلالة البرية .

٥– طفرات ذات تركيب سطحى (أو تركيب خلوى) مغاير مما يعطيها صفاتا أنتجينية خاصة ، وتسمى طفرات أنتجينية Antigenic mutants .

٦– طفرات فقدت بعض مكوناتها التركيبية ، مثل فقد الأسواط ، أو الكابسول ، أو القدرة على التجرثم .

٧– طفرات قادرة على انتاج سلالات ذات طَرْز شكلى برى تحت شروط مزرعية معينة ، وإنتاج سلالات ذات طرز شكلى مغاير تحت ظروف أخرى ، وتسمى هذه الطفرات ، بالطفرات التى تعبر عن نفسها تحت شروط معينة Conditionally expressed mutants .

٨– طفرات قادرة على إنتاج صبغات .

٩– طفرات حساسة للحرارة المرتفعة أو للبرودة .

١٠– طفرات مقاومة للبكتريوفاج .

ويبين جدول [٨ (١)–٣] ، بعض أنواع الطفرات البكتيرية .

جدول ٨ (١) - ٣ : بعض أنواع الطفرات البكتيرية .

الصفـــة	نوع التغيــر	طريقة التعرف على الطفرة
عدم التحرك	عدم تكوين أسواط أو تكوين أسواط غير نشطة	المستعمرات منضغطة بدلا من مسطحه أو منتشرة
غير معلبة	عدم تكون العلبة أو حدوث تغير فى تكوين العلبة	تكون مستعمرات خشنة صغيرة بدلا من ناعمة كبيرة
مستعمرات خشنة	عدم تكون أو حدوث تغيــر فـــى السكريات المعقدة على السطح	تكون مستعمرات محببة غير منتظمـة بدلا من المستعمرات الناعمة اللامعة
غذائيـــة	فقد أحد الإنزيمات فى المسار الأيضى	عدم القدرة على النمو فى البيئة الخالية من المادة الغذائية
عدم تخمير السكر	فقد القدرة على تكوين الإنزيم المحلل للسكر	عدم حدوث تغير فى بيئة السكر المحتوية على دليل
المقاومة للأدوية	إما عدم نفاذية الدواء الى داخل الخلية أو حدوث تغير فى الموقع الذى يؤثر فيه الدواء أو إكتساب القدرة على إفقاد فعاليه الدواء	النمو فى بيئة تحتوى على تركيب مؤثر من المادة
المقاومة للفيروس	فقد مواضع الاستقبال للفيروس	النمو فى وجود الفيروس بتركيز عالى
الحساسية للحرارة	حدوث تغير فى بروتين أساسى يجعله حساس للحرارة	عدم القدرة على النمو فى درجات حرارة عادة ماتنمو عليها السلالة الأصلية (٤٠°م مثلا) ، بينما مازال قادرا على النمو على درجة حرارة أقل
الحساسية للبرودة	تغير فى بروتين أساسى بحيث يحدث له تثبيط بإنخفاض الحرارة	عدم القدرة على نمو فى درجات الحرارة المنخفضة التى ينمـــو عليها عادة
عدم تكون الصبغة	فقد إنزيم فى المسار الأيضى يؤدى إلى عدم تكون الصبغة	الملاحظة بالرؤية لإختلاف اللون عن الأصل

الأساس الجزيئى للطفور : Molecular basis of mutation

يحدث الطفور نتيجة تغير موروث فى تتابع القواعد فى الدنا ، حيث نجد فى أغلب الأحوال أن تغير القواعد فى كروموسوم الكائن ، يحدث تغيرا فى الكائن ، وهذه التغيرات عادة ماتكون ضارة ، رغم حدوث تغيرات مفيدة فى بعض الأحوال .

والطفرات إما ذاتية Spontaneous (أى تحدث بشكل طبيعى) أو مستحثة Induced (أى تحدث بتأثير عامل مطفر) . ويفترض أن الطفرات الذاتية تحدث لوجود الاشعاع الطبيعى (مثل الأشعة الكونية) ، أو تحدث أثناء التكاثر لخطأ فى ازدواج القواعد ، مما يؤدى الى تغير فى الدنا المتضاعف . وهذه الأخطاء الذاتية تحدث بنسبة ضعيفة جدا بين الكائنات ، وبمعدل طفور منخفض جدا ، يتراوح من $١٠^{-٧}$ الى $١٠^{-١٠}$ لكل زوج من القواعد فى كل دورة تضاعف للخلية ، ولما كان الجين العادي يتكون من حوالى ١٠٠٠ زوج من القواعد ، فإن المزرعة الميكروبية المحتوية على $١٠^{٨}$ خلية/ مل ، سوف تتكون فيها طفرة واحدة لكل ملليلتر من المزرعة .

والطفرة التى تتضمن واحدا أو عددا قليلا جدا من أزواج القواعد (أى تحدث فى نقطة محددة بالكروموسوم) تسمى طفرة نُقَطِيَّة Point mutation ، وهى تحدث نتيجة استبدال فى زوج من القواعد فى الدنا ، أو بسبب حدوث غرز دقيق Microinsertion ، أو إزالة دقيقة ، لزوج من القواعد Microdeletion . وكما هو الحال مع كل الطفرات ، فإن الطرز الشكلى الذى يظهر نتيجة هذه الطفرة النقطية ، يعتمد على أى موقع حدثت فيه تلك الطفرة فى الجين ، وأى نوع من التغير حدث فى القواعد ، وأى مركب يحكمه هذا الجين .

استبدال أزواج القواعد : Base pair substitution

إذا ماحدثت الطفرة النُقَطِيَّة (المُحدَّدَة) Point mutation فى جين يحكم بروتين ، فإن أى تغير فى الطرز الشكلى للخلية ، لابد وأن يكون ناتجا عن التغير الذى حدث فى تتابع الأحماض الأمينية فى البروتين الناتج ، ويوضح الشكل التالى [٨ (١) - ٣] ، أزواج القواعد المستبدلة ، التى يمكن أن تحدث فى منطقة صغيرة من الدنا فى الجين الذى يحكم تكوين البروتين . وقد تم استنساخ الخطأ فى الـ mRNA ، وهذا الـ mRNA المحتوى على الخطأ سوف يستخدم كطابعة (قالب) للترجمة فى تكوين البروتين .

ويلاحظ أن أحد سلسلتى الدنا هو الذى يستخدم كطابعة لتكوين mRNA ، وأن الاستنساخ من زوج T ← A ، يختلف عما إذا تم الاستنساخ من T → A ، وتغير أى قاعدة فى mRNA ، سوف يتبعه تغير فى كود ثلاثى خاص بوجود حامض أمينى معين فى جزىء البروتين ، مما قد ينتج عنه خطأ فى تتابع الأحماض الأمينية .

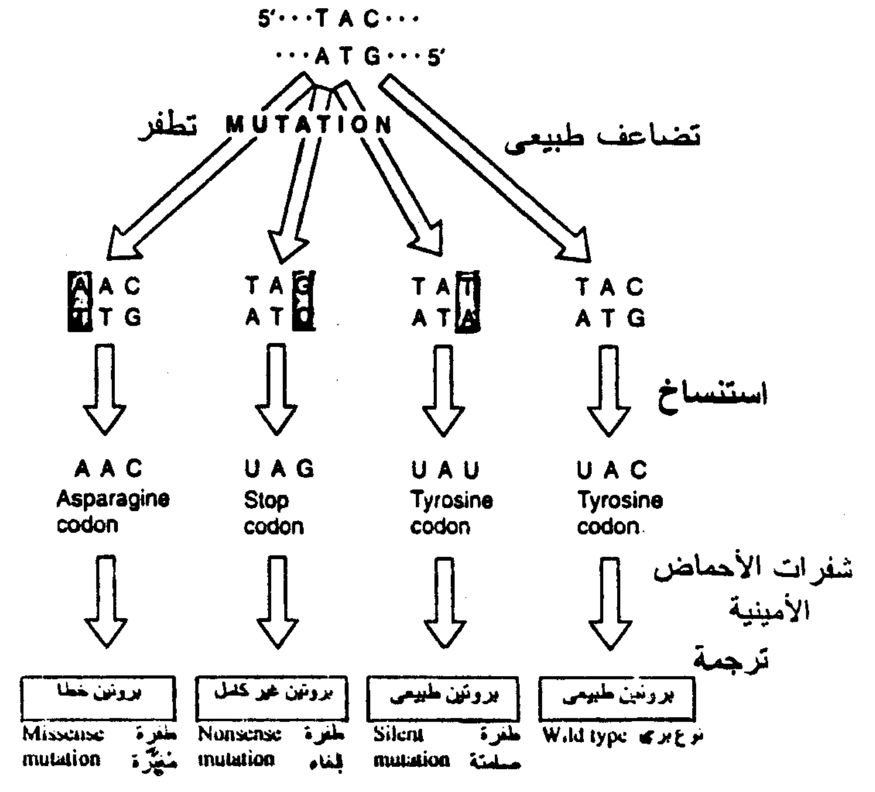
ويجب أن نلاحظ أن وجود أكثر من كود للحامض الأمينى ، قد يؤثر على ناتج تغير القواعد ، كما أنه ليست كل طفرة فى جين تؤدى إلى تغير فى بناء البروتين .

ويوضح الشكل [٨ (١) - ٣] الاحتمالات المختلفة ، التى تنتج نتيجة لتغير كود يحكم الحامض الأمينى تيروسين Tyrosine ، كما نجد أن التغير فى الـ mRNA من UAC إلى UAU ليس له أثر ، حيث أن الكود الثلاثى الجديد هو أيضا كود للتيروسين ، ومثل هذه الطفرة

فى القواعد تسمى طفرة صامتة Silent mutation [1] ، ويلاحظ أن الطفرات الصامتة تحدث غالبا فى القاعدة الثالثة فى كود الأحماض الأمينية ، بينما فى كل من الأرجنين والليوسين ، تحدث الطفرة الصامتة من وقوع تغير فى القاعدة الأولى .

وتغير القاعدة الأولى أو الثانية فى كود التيروسين ، يؤدى الى حدوث تغير كبير فى البروتين الناتج ، فمثلا تغير قاعدة واحدة من UAC إلى AAC ، تؤدى الى تغير التيروسين الى اسباراجين . وتسمى مثل هذه الطفرة (طفرة مُغَيِّرَة) [2] Missense mutation لأن تتابع الأحماض الأمينية قد تغير ، فإذا ماحدث هذا التغير فى منطقة هامة فى السلسلة الببتيدية للبروتين ، فقد يصبح البروتين الناتج غير فعال أو على الأقل يقل نشاطه .

والنتيجة المحتملة الأخرى لتغير قاعدة ، هى احتمال تكون شفرة توقف Stop codon ، وهذا يؤدى إلى ايقاف عملية الترجمة قبل اكتمالها مكونة بذلك بروتينا غير كامل ، وبالتالى غير فعال ، والطفرة من هذا النوع تسمى طفرة إلغاء ، أو طفرة عديمة المعنى Nonsense mutation ، ويكون التغير من تأثير شفرة إلغاء Nonsense codon .



شكل ٨ (١)-٣ : التأثيرات المختلفة لعملية استبدال القواعد فى بناء البروتين الناتج .
لاحظ وجود ثلاث حالات لتأثر البروتين ، ناتجة عن حدوث طفرة فى كود واحد فقط بالدنا

---

(١) طفرة صامتة Silent mutation : طفرة جينية ليس لها تأثير على الطرز الظاهرى .

(٢) طفرة مُغيِّرة ، طفرة خاطئة التعبير Missense mutation : طفرة تحدث تغيرا بوحدة التشفير الثلاثية (الكودون) الموجودة فى mRNA ، فتوجهها لتكوين حامض أمينى مغاير .

ويجب أن نلاحظ أن الطفرات التى تسبب تغيرا فى تتابع الأحماض الأمينية ، ليس من الضرورى أن تسبب تكون بروتين غير فعال ، فالناتج يتوقف على أين يحدث التغير فى السلسلة الببتيدية ، وكيف يؤثر ذلك على إلتفاف الجزىء ، والدور التنشيطى للبروتين . وأن الطفرة المغيرة Missense mutation التى تغير التتابع ، يمكن أن تؤدى الى تكون إنزيم حساس للحرارة مثلا ، ومثل هذه الطفرة تسمى طفرة الحساسية للحرارة Temperature-sensitive mutation ، وتحدث مثل هذه الطفرات فى البكتريا المعروف عنها أنها تعمل طبيعيا عند درجة ٣٠°م ولكنها لاتنمو عند درجة ٤٠°م ، بينما النوع البرى ينمو جيدا عند درجتى الحرارة المذكورتين. ومثل هذه الطفرة تسمى أيضا طفرة مشروطه Conditional mutation ، حيث أن البكتريا لايمكنها أن تنمو فى ظروف معينة ، ولكن يمكنها أن تنمو فى ظروف أخرى . وتحدث هذه الطفرة نتيجة أن البروتين الناتج عن الطفرة يستطيع أن يحافظ على شكله الفراغى فى درجة حرارة معينة ، بينما يحدث فك جزئى لالتفافه عند درجة حرارة أعلى .

طفرات انحراف اطار القراءة * : Frame-shift mutations

لما كان الكود الوراثى المكون من ثلاث قواعد ، يتم قراءته من أحد الطرفين ، فإن غرز أو إزالة زوج من القواعد يؤدى الى حدوث تغير فى إطار القراءة ، وبالتالى فإن الترجمة للجين تتغير تماما [شكل ٨ (١) - ٤] . ومن الممكن أن يتم استعادة عمل الجين جزئيا لو تم إدخال قاعدة أخرى بدلا من القاعدة المفقودة بعد التعديل ، ومع الأخذ فى الاعتبار مدى الأحماض الأمينية التى يتم تكونها بالجزء الذى لازال خاطئا ، فإن البروتين الناتج قد يكون فعالا جزئيا ، وقد يكون عاديا .

ومن المهم أن نتذكر أن الغرز (الإدخال) الدقيق Microinsertion أو الإزالة (الفقد) الدقيقة Microdeletion يسبب طفرة فى إطار القراءة فقط ، إذا ماحدث ذلك فى الجزء من الجين الذى يشفر للبروتين . بينما إدخال قاعدة واحدة فى البروموتر Promoter من الممكن أن تؤدى الى حدوث تأثير شديد على قدرة الجين على العمل ، ولكنه لايعتبر طفرة فى إطار القراءة ، وبالمثل فإن استبدال القواعد خارج منطقة إطار القراءة ، لايسبب حدوث طفرة مغيرة Missense (تسبب تغيرا فى تتابع الأحماض الأمينية) ، أو حدوث طفرة إلغاء Nonsense .

Insertion mutation — T A C G G A C C A A T A C T — إنحراف فى إطار القراءة
طفرة غرز (إدخال)
Insertion غرز
Normal DNA — T A C G G A C A A T A C T — إطار قراءة طبيعى
دنا طبيعى
Deletion إزالة
Deletion mutation — T A C G G C A A T A C T — إنحراف فى إطار القراءة
طفرة إزالة (فقد)

شكل ٨ (١) ٤ : الإنحراف فى إطار القراءة عند الاستنساخ ، نتيجة حدوث طفرة غرز (إدخال) أو طفرة إزالة (فقد) ، لقاعدة واحدة .

---

* طفرة إنحراف إطار القراءة : طفرة تنتج عن إزالة (فقد) أو غرز (ادخال) ، عدد من القواعد فى حبن بخيوط الدنا .

الطفرات الرجعية (الإنعكاسية) : Back mutation, Reversion mutation

من المعروف أن الطفرة النُقَطِّيَّة Point mutation طفرة رجعية ، وتعـرف الطفـرة الرجعية بأنها الطفرة التى تحدث فى جين طافر تعيده الى حالته الطبيعية ، بمعنى أنـها الطفـرة التى تجعل السلالة تستعيد الطرز الشكلى الخاص بالطرز البرى .

والطفرة الرجعية على نوعين

الأول النوع الانعكاسى ، الذى يحدث فى نفس الموضع Same-site revertants ، حيث تحـدث الطفرة فى نفس الموقع الذى حدثت فيه الطفرة الأولى ، ويلاحظ أنه إذا حدثت الطفرة الرجعيـة فى نفس الموقع واستعادت تتابع الطرز البرى فإنها تسمى إرتجاع حقيقى True revertant .

أما النوع الثانى من الطفرات الرجعية فهو الانعكاسى الذى يحدث فى موضـــع ثـانى ، غـير الموقع الذى حدثت فيه الطفرة الأولى ، حيث تحدث الطفرة فى موقع أخر فى الدنا .

قد تؤدى الطفرة التى من النوع الثانى إلى استعادة الطرز الشكلى للطرز البرى ، نتيجة لحدوث عدد من أنواع الطفرات الكابتة Suppressor mutations* ، مؤديـــة لتكويـن الطـرز الشكلى الأصلى ، والطفرات الكابتة هى طفرات جديدة تعادل أثر الطفرة السابقة .

وهناك عدد من الطفرات الكابتة منها

١- طفرة تحدث فى موقع آخر فى نفس الجين تعيد له نشاطه ، مثل مايحدث فى طفرات إطـار القراءة

٢ - طفرة تحدث فى جين أخر ، تؤدى الى استعادة الطرز الشكلى البرى .

٣- طفرة قد تؤدى إلى تكوين إنزيم أخر يحل محل الأنزيم الذى تأثر بالطفرة الأولـى ، وذلـك نتيجة لإحداث مسار أيضى بديل لذلك الذى كان يستخدم فى حالة الإنزيم الذى تطفر .

الطفرات المتضمنة عديد من أزواج القواعد

تشمل هذه الطفرات عدة أنواع ، منها

أ - طفرة الإزالة (الفقد) Deletion mutation

وهى الطفرة التى يتم فيها إزالة جزء من الدنا ، والإزالة الدقيقة **Microdeletion** هى التى يتم فيها إزالة قاعدة واحدة أو عدد قليل جدا من القواعد، والتى تؤدى الى طفرات فى إطار القراءة .

أما الإزالة الكبيرة Macrodeletion ، فهى التى تتضمن فقـد المئـات أو الألاف مـن أزواج القواعد ، ويؤدى هذا الفقد الكبير من الدنا إلى فقد تام لعمل الجين الذى حدثت فيه تلك الطفـرة . وحالات الفقد قد تكون كبيرة ، لدرجة إنها تتضمن عددا من الجينات ، فإذا ماكان أى من هـذه الجينات أساسيا للحياة ، فإن الطفرة تصبح مميتة .

---

* طفرة الكابت (الكابح) Suppressor mutation

الكابت جين بالدنا يمنع جين آخر من إظهار طرزه الشكلى ، وحدوث طفرة بالكابت ، تعيد كليا أو جزئيا وظيفة الكابت التى فقدت بسبب طفرة سابقة .

ومثل هذا الفقد لايمكن استعادته بطفرات أخرى ، ولكن يمكن استعادته فقط بواسطة الإتحادات الوراثية .

وفى الحقيقة ، فإن احدى الطرق التى يمكن بها التمييز بين الطفرة المحدودة الموقع (النقطية) ، وبين طفرات الإزالة ، هى أن الأولى يمكن استعادة حالتها الأصلية بالطفرة الرجعية بعكس طفرات الإزالة .

ب - طفرة الغرز (الادخال) Insertion mutation

ويتم الغرز عندما تضاف قواعد جديدة للدنا ، وكما ذكر فى طفرة الإزالة ، فإن الغرز قد يكون دقيقا **Microinsertion** ، أى يتضمن قاعدة واحدة أو يتضمن جزءا صغيرا من القواعد ، ويحدث ذلك نتيجة خطأ فى التضاعف .
أو قد يحدث الغرز بنسب كبيرة **Macroinsertion** ، أى بإضافة المئات أو الآلاف من أزواج القواعد ، ويحدث ذلك كنتيجة لخطأ أثناء الاتحادات الوراثية .

بالإضافة إلى ماسبق ، فإن هناك أنواعا أخرى من الطفرات الكبيرة الحجم ، التى تنتج عن إعادة ترتيب القواعد ، نتيجة وقوع أخطاء فى الاتحادات الوراثية . وتتضمن هذه الطفرات

١ - الانتقال Translocation

والذى يتم فيه تحرك جزء كبير من الدنا الكروموسومى من موقعه الى موقع آخر جديد بنفس الكروموسوم ، بل قد تنتقل إلى كروموسوم آخر فى حقيقيات النواة .

٢- الانقلاب ، الإنعكاس Inversion

والذى يتم فيه حدوث كسر فى نقطتين على الدنا الكروموسومى ، ثم تدور القطعة المكسورة بين نقطتى الكسر ١٨٠ درجة ، وتتحد نهايتى القطعة المكسورة بالدنا فى عكس موضعها السابق ، وبذلك ينعكس وضع القطعة المكسورة من الدنا ، بالنسبة لباقى الجزىء ، مما يؤدى إلى إنعكاس النسق الجينى .

معدل الطفور : Rate of mutation

معدل الطفور هو متوسط عدد الطفرات التى تنتج من الخلية فى الانقسام الخلوى الواحد ، ويقدر هذا المعدل عادة بالخلايا البكتيرية وهى فى طور النمو السريع تحت ظروف مزرعية مثلى .
ويوجد اختلاف كبير فى معدل الطفور بين مختلف الطفرات ، فبعض الطفرات تكون نادرة جدا، لدرجة يكون من المستحيل ملاحظتها ، بينما تحدث بعض الطفرات الأخرى بكثرة ، لدرجة تجعل من الصعب على الباحث إمكانية المحافظة على ثبات المزرعة .
وعموما ، فإن معدل الطفور الذاتى فى أى جين يصل فى المتوسط الى 10^{-6} لكل جيل . وهذا يعنى أن هناك فرصة واحدة فى المليون ، لحدوث طفرة فى موقع ما فى الجين مع كل دورة تضاعف للخلية . أما طفرات الإلغاء Nonsense فإنها تكون بمعدل أقل (من 10^{-4} الى 10^{-10}) . حيث أن عددا قليلا من القواعد يمكن أن يحدث فيها شفرة إلغاء Nonsence codon، وأيضا فإن الطفرات المُغيِّرة Missense mutations ، تحدث بنفس المعدل أيضا .
ويلاحظ انه يمكن زيادة معدل الطفور ، باستخدام المطفرات .

المطفرات : Mutagens

المطفرات الكيميائية

كثير من المطفرات الكيميائية عبارة عن مشابهات للقواعد النتروجينية Base analogs، حيث تتشابه هذه المطفرات مع قواعد البيورين والبريميدين فى تركيبها مع اختلاف ضئيل ، ويؤدى وجود المطفرات الكيميائية بالوسط الى حدوث أخطاء فى ازدواج القواعد النتروجينية ، بازدواجها مع المطفرات الكيميائية بدلا من ازدواجها مع القاعدة الأصلية ، مما يؤدى لحدوث طفرة ، [شكل ٨ (١) - ٥] .
ويوضح جدول [٨ (١) - ٤] بعض المطفرات وتأثيرها المطفر.

القاعدة المشابهة	القاعدة الأصلية	الطفرة الناتجة
5-Bromouracil (a)	Thymine	تزاوج ٥- برروموبورلسيل مع جوانين محولا تزاوج A-T الى G-C
2-Aminopurine (b)	Adenine	تزاوج ٢- لمينوبيورين مع سيتوزين محولا تزاوج A-T الى G-C

شكل ٨ (١)- ٥ : التطفر لوجود مشابهات للقواعد النتروجينية
(a) مادة مشابهة لقاعدة الثايمين (b) مادة مشابهة لقاعدة الأدينين .

جدول ٨ (١)- ٤ : بعض المطفرات الكيميائية والفيزيائية ونظام تأثيرها .

العامل المطفر	نظام التأثير	نتيجة التأثير
مشابهات القواعد Base analogs		
5-Bromouracil	- تعمل مثل القاعدة T - وازدواج خاطىء مع G	A-T pair → G-C pair
2- Amino purine	- تعمل مثل القاعدة A - وازدواج خاطىء مع القاعدة C	A-T → G-C
كيماويات تتفاعل مع حامض الدنـــا مثل		
Nitrous acids (NHO_2)	- نزع مجموعة الأمين فى قواعد A,C	A-T → G-C & G-C → A-T
Hydroxylamine (NH_2OH)	- التفاعل مع القاعدة C	G-C → A-T
عوامل مؤلكلة Alkylating agents		
أ - أحادية التأثير مثل Ethyl methane sulfonate	- وضع مجموعة ميثايل على القاعدة G - وازدواج خاطىء مع T	G-C → A-T
ب - ثنائية التأثير ، مثل Mitomycin Nitrogen mustards Nitrosoguanidine	- تقاطع مع خيوط الدنا - وقطع خاطىء لمنطقة بواسطة DNase	طفرات نقطية ، وإزالة
ج - صبغات مقحمة للمواد ، **Intercalactive dyes** ، مثل Acridines Ethidium bromide	غرز بين زوجين من القواعد	غرز دقيق ، وإزالة دقيقة
اشعاع Radiation		
أشعة فوق بنفسجية ٢٦٠ نانومتر طول موجى	تكوين أزواج من قواعد البريميدين	قد يؤدى لمتصاص الأشعة إلى حدوث ازدواج خاطىء ، أو حدوث إزالة
أشعة مؤينة مثل X-rays ٥ نانومتر طول موجى	مهاجمة الشقوق الكيميائية الحرة لحامض الدنا ، وتأينها	قد يؤدى التأين الى حدوث خطأ أو حدوث ازالة

وهناك العديد من المواد الكيميائية [جدول ٨ (١) - ٤] ، التى تتفاعل مع الدنا محدثـــة تغيرا كيميائيا فى واحدة أو أكثر من القواعد ، مما يؤدى إلى حدوث خطأ فى ازدواج القواعـــد ، من هذه المواد ، تلك التى تضيف مجاميع الكيل وتسمى عوامل مؤلكله Alkylating agents مثل النتروزوجوانيدين Nitrosoguanidine ، وهو من المطفرات القوية ، حيث يحدث نسبة عاليـــة من الطفرات أكثر مما تحدثه مشابهات القواعد . وتختلف هذه المواد المؤلكله عـــن مشـــابهات القواعد ، من حيث إنها تتفاعل مع الدنا محدثة تغيرا حتى لو لم يكن الدنا فى حالة تضـــاعف ، بينما مشابهات القواعد تعمل من خلال دخولها فى تركيب الدنا أثناء التضاعف .

وهناك مجموعة أخرى هامة من المطفرات وهـــى مركبـــات الاكريديـــن Acridines ، وهـــذه المركبات تدخل بين القواعد فى الدنا لتباعد بينها ، وأثناء التضاعف يؤدى ذلـــك التبـــاعد إلـــى إدخال قواعد جديدة فى الدنا المعامل ، مما يزيد من طوله ، ويؤدى إلى حدوث تغيير فى إطـــار القراءة .

الإشعـــاع : Radiation

كثير من أنواع الإشعاع لها تأثير مطفر ، ويمكن تقسيم هذه المطفرات إلى قســـمين ، هما الأشعة المؤينة والأشعة غير المؤينة ، ورغم أن كلا النوعين من الأشعة يســـتخدمان فـــى احداث الطفرات ، إلا أن الأشعة غير المؤينة (فوق البنفسجية) هى الأكثر استخداما .

فمن المعروف أن قواعد البيورين والبريميدين فى الأحماض النووية تمتـــص الأشـــعة فوق البنفسجية بشدة ، ويقع أقصى امتصاص لها عند طول موجى ٢٦٠ نانومتر ، والـــبروتين أيضا يمتص الأشعة فوق البنفسجية ولكن أقصى امتصاص له يكون عند nm٢٨٠ (ويرجع هـــذا الامتصاص العالى للبروتين ، الى الأحماض الأمينية الحلقية من التربتوفان ، الفينـــايل ألانيـــن ، التيروزين ، الداخله فى تركيبه) .

والأثر القاتل للأشعة فوق البنفسجية يرجع لأثرها على الدنا ، ويقع أقصى تأثير قـــاتل لهذه الأشعة عند طول ٢٦٠ nm ، وللأشعة فوق البنفسجية عدد من التأثيرات على الدنا ، مـــن أهمها إحداث ازدواج لقواعد البريميدين (Pyrimidine dimers) المتجاورة بروابـــط تســـاهمية Covalent bands . وعلى هذا ، فإنه عند تضاعف الدنا فمن المحتمل بدرجة عاليـــة أن يُدخِـــل إنزيم DNA polymerase ، قاعدة خاطئة فى هذا الموقع .

ولإحداث الطفرات بواسطة الأشعة فوق البنفسجية ، فإنه يستخدم لهذا الغرض لمبـــات الأشعة فوق البنفسجية المستخدمة فى قتل الميكروبات ، حيث تعطى نسبة عالية من الإشعاع عند nm٢٦٠ ، وتستخدم جرعة من الاشعاع تؤدى الى قتل ٩٠ - ٩٥% من خلايا المزرعة ، ويتم البحث عن الطفرات فى الخلايا الحية الباقية .

وإذا ماأستخدمت جرعة أقل ، فإن نسبة الطفرات تقل نتيجة نقص الأثر الضـــار علـــى الخلايا ، وتعتبر الأشعة فوق البنفسجية من أكثر الأشعة غير المؤينة استخداما فى الطفور .

أما بالنسبة للأشعة المؤينة ، فإنها تعتبر مصدرا قويا ومؤثرا ، وهى تضم الأشعة قصيرة الموجة مثل أشعة اكس X-rays ، والأشعة الكونية Cosmic rays ، وأشعة جاما Gamma rays ، وتؤدى الأشعة المؤينة إلى إحداث تأين فى الماء وغيره من المواد .

ويحدث التأثير المطفر للأشعة المؤينة بطريقة غير مباشرة نتيجة لماتسببه من تأين ، ومن أكثر التأثيرات لهذا التأين تكون الشقوق الكيميائية الحرة Free radicals وأهمها مجاميع الهيدروكسيل HO^- ، وتتفاعل الشقوق الحرة مع الجزيئات البيولوجية الكبيرة Macromolecules وأهمها الدنا ، وليس معنى هذا أن الدنا أكثر حساسية للأشعة المؤينة عن غيره من الجزيئات الكبيرة ، ولكن نظرا لأن كل جزىء دنا يحتوى عادة على نسخة واحدة من كل جين ، فإن التفاعل معه وتثبيطه يكون ذو تأثير شديد . وعند الجرعات المنخفضة من الأشعة المؤينة فإن ماتسببه من أضرار للدنا يكون قليلا ، بينما عند جرعات أعلى فإنها تحدث أضرارا متعددة مؤدية الى موت الخلايا .

وعلى عكس الأشعة فوق البنفسجية ، فإن الأشعة المؤينة لها قدرة على إختراق الزجاج رغيره من المواد ، وعلى هذا فإن الأشعة المؤينة تستخدم بكثرة فى إحداث الطفرات فى النبات والحيوان ، حيث أن قدرتها العالية على الاختراق تجعل من الممكن أن تصل إلى الخلايا الجنسية لهذه الكائنات ، ولكن يجب أن نلاحظ أنه نظرا لخطورة الأشعة المؤينة وصعوبة توفيرها ، فإنها أقل استخداما فى عمل الطفرات فى الكائنات الدقيقة ، خصوصا وأن قدرة الاختراق المحدودة للأشعة فوق البنفسجية ليست مشكلة تعيق إستخدامها .

المتنقلات ، الترانزبوزونات : Transposons

من مسببات الطفور أيضا ، مايعرف بالمتنقلات Transposons ، واختصارها Tn ، وهذه عبارة عن وحدات من الدنا ، قادرة على الانتقال من جزىء دنا إلى آخر ، أو من جزىء دنا الكروموسوم الى البلازميد أو بالعكس ، وتنغرز بالجزىء المنقولة إليه .

وتوجد هذه المتنقلات فى خلايا بدائيات النواة ، وفى خلايا حقيقيات النواة ، ومنها مايحمل عوامل جينية هامة مثل جينات تخمر بعض السكريات ، كما أن المتنقلات قادرة على إحداث تغيرات فى الدنا ، بالإزالة Deletion ، أو بالانعكاس Inversion* ، ومن أمثلة هذه المتنقلات ، مايأتى من الفاج المسمى Mu ، المعتبر كعامل مطفر Mutagen .

الطفرات الناتجة عن عمليات إصلاح الدنا : Mutations arising from DNA repair

نعلم أن الطفرات هى تغيرات موروثة فى الدنا ، وعلى هذا فإذا ماحدث أى خطأ فى تكوين الدنا وأمكن إصلاحه قبل انقسام الخلية ، فان هذا يؤدى الى عدم حدوث طفرات ، وعلاوة على ذلك فإن الدنا قد يحدث ضررا لايمكن أن يتضاعف ، وبهذا لايمكن إعتباره طفرة ، فعلى سبيل المثال ، اذا حدث فى جزىء دنا ازدواج لقاعدتى بريميدين ، فإنه لايمكن أن يتضاعف ليعطى جزيئين من الدنا بكل منهما هذا الازدواج ، فإذا لم يتم إصلاح هذا الخلل فإن الخلية تموت .

---

* أنظر الطفرات المتضمنة عديد من أزواج القواعد ص ٥٧٣ و ٥٧٤ .

وتحتوى أغلب الخلايا على عدد من نظم إصلاح الدنا لتصلح الأخطاء أو الضرر الذى حدث بالدنا ، ورغم أن أغلب نظم الإصلاح لايحدث بها أخطاء . إلا أن بعض عمليات الاصلاح يكون بها ميل لحدوث أخطاء ، بحيث أن نظام الإصلاح نفسه يؤدى لحدوث طفرات .

ولذلك ، فإن هناك العديد من الطفرات التى تتكون ، نتيجة لوقوع خطأ فى عمليات إصلاح إضرار الدنا التى تحدث نتيجة لعوامل مختلفة . وهناك ميكانيكية فى الخلية ، تسمى نظام الطوارىء الخاص بالاصلاح SOS repair system * ، تنشط عند حدوث ضرر فى الدنا مما يؤدى الى نشاط ميكانيكيات عمليات الإصلاح ، ونظرا لأنه نظام طوارىء ، فان بعض نظم الإصلاح تعمل بدون قالب Template ، مما يؤدى لحدوث بعض الأخطاء ، وبالتالى إلى حدوث بعض طفرات .

وفى نظام الطوارىء ، نجد أن الضرر فى الدنا يعمل كمنبه للخلية ، حيث يؤدى إلى تنشيط عدد من الأنشطة الخلوية التى تعمل على إصلاح الدنا . ويلاحظ أن نظام الطوارئ فى الظروف العادية يتم تثبيطه بواسطة بروتين يسمى LexA protein ، ولكن عند وجود ضرر ، يتكون إنزيم بروتييز يسمى RecA يثبط عمل LexA ، مما ينشط نظام الطوارئ .

ونظرا لأن بعض نظم الإصلاح يوجد بها ميل لحدوث أخطاء ، فإن هذا يؤدى إلى تكوين طفرات عديدة ، ومن هنا يتضح بانه من خلال نظام الطوارىء ، فإن إصلاح الضرر فى الدنا ، الناتج عن تأثير بعض العوامل مثل الكيميائيات أو الاشعاع ، قد ينتج عنه طفرات فى بعض الحالات .

ويجب أن نشير الى أن عمليات إصلاح الدنا لاتتم كلها فى غياب توجيه من القالب Template ، فالخلية عادة مايوجد بها كثير من نظم الإصلاح التى تعمل بتوجيه من القالب ، وبالتالى فإن ذلك يؤدى الى إصلاح منضبط للدنا ، وهذه الأنظمة تعمل أغلب الوقت ، ومع ذلك ، فإنها تكون غير كافية لإصلاح الأضرار الكبيرة ، التى تحدثها بعض العوامل المطفرة التى سبق ذكرها .

---

* Save Our Souls : SOS

نداء استغاثة يستعمله البحارة ، عند مخاطبة السفن المجاورة لموقع تواجدهم ، لإنقاذهم من الغرق ، أو من كارثة ستصيبهم ، ويستعمل نفس التعبير على سبيل المجاز ، لاصلاح الأضرار التى تحدث بدنا الخلية .

﴿الباب الثامن – الفصل الثانى﴾

انتقال العوامل الوراثية فى البكتريا

المحتويـــات

الموضوع **الصفحة**

المحتويــات

الموضوع	الصفحة

(الباب الثامن - الفصل الثانى)

انتقال العوامل الوراثية فى البكتريا ، الاتحاد الجينى فى البكتريا

Recombination in Bacteria

مقدمة

يعنى مصطلح Recombination ، انتقال جزء من المادة الوراثية من خلية مانحة الى خلية أخرى مستقبلة ، واندماج المادة المنقولة مع كروموسوم الخلية المستقبلة . ويعتبر انتقال العوامل الوراثية بين الخلايا البكتيرية ، أحد الوسائل التى تساعد البكتريا على التغير والتكيف مع الأوساط التى تعيش فيها .

والمعروف أن انتقال الصفات الوراثية فى الكائنات الراقية يتم بطريقة منظمة خلال الدورة التزاوجية ، أما فى الكائنات بدائية الخلايا Procaryotes ، فان هذا الانتقال يتم عشوائيا، ويتم انتقال العوامل الوراثية فى البكتريا بعدة طرق ، كلها تتضمن انتقال جزء (Fragment) من دنا خلية تسمى الخلية المانحة Donor ، الى خلية أخرى تسمى الخلية المستقبلة Recipient، وهذا الجزء المنقول ، يندمج مع جينوم Genome الخلية المستقبلة حاملا معه الصفات الجديدة .

والجينوم أى الجهاز الوراثى للكائن ، كما ذكر سابقا (ص ٢٦١) ، هو مجموع الجينات التى تحملها جميع الكروموسومات الفردانية IN ، الموجودة بخلية الكائن ، وهى جينات منقولة من الخلية الأبوية الى الخلية البنوية .

ويختلف حجم الجينوم كثيرا من كائن لآخر ، وفى المتوسط فان عدد القواعد بالمليون ، التى توجد بالجينوم ، تبلغ حوالى (٥,٠) فى الكولاى ، و (١٥) فى خميرة الخباز ، و (١٨٠) فى ذبابة الدروسوفيلا و (٣٠٠٠) فى الإنسان .

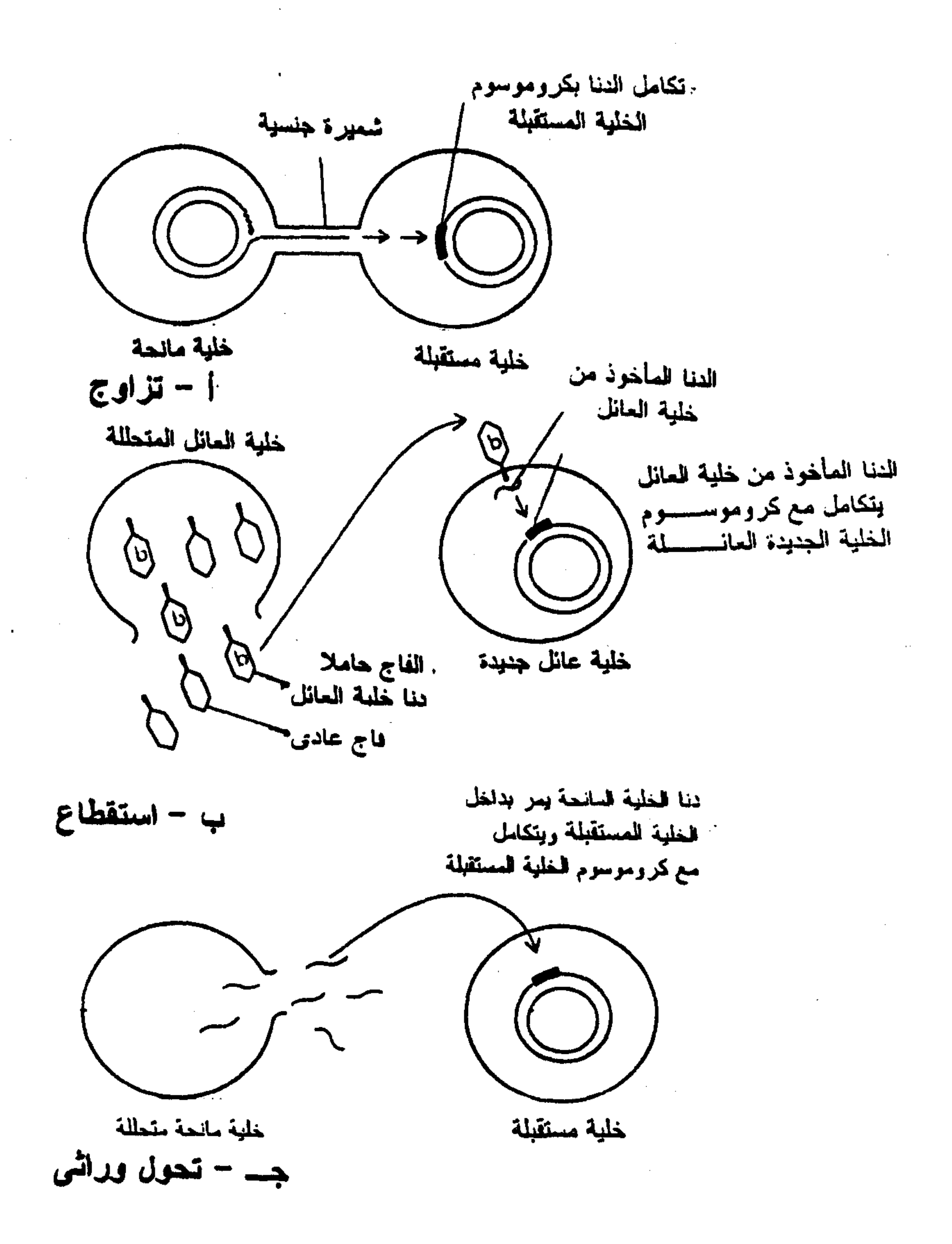
وطرق انتقال المادة الوراثية ثلاثة [شكل ٨ (٢)-١] ، هى

١- **التحول الوراثى Transformation** ، وفيه يتم انتقال جزء من دنا خلية مانحة ذات طرز جينى معين ، إلى الخلية المستقبلة التى من نفس النوع ، ولكنها من طرز جينى اخر . وينتقل ذلك الجزء من الدنا فى صورة حرة ذائبة .

٢- **الاستقطاع (أو الانتقال عبر الفاج) Transduction** ، وفيه ينتقل جزء من المادة الوراثية من خلية مانحة ، الى خلية أخرى مستقبلة محمولا على الفاج .

٣- **التزاوج Conjugation** ، وفيه تنتقل المادة الوراثية من خلية مانحة لأخرى مستقبلة ، نتيجة لاتصال حقيقى يحدث بين الخليتين Cell to cell contact ، وغالبا مايتم ذلك عن طريق شعيرة جنسية .

وعلى العموم ، فإن انتقال العوامل الوراثية بين خلايا البكتريا ليست عملية شائعة الحدوث مثل الكائنات الراقية ، ولكنها تحدث فى عدد محدود من الخلايا البكتيرية التى فى المزرعة ، ولذلك فان تتبع حدوث هذا الانتقال بأنواعه المختلفة ، يحتاج لطرق خاصة ، ويكون فيه من الضرورى أيضا ، استخدام خلايا مستقبلة من سلالة تؤدى عملية التزاوج فيها ، الى ظهور صفة جديدة مميزة ، توضحها عن باقى الخلايا البكتيرية الأخرى الموجودة فى المزرعة حتى يمكن تتبعها .



شكل ٨ (٢)-١ : طرق انتقال المادة الوراثية فى البكتريا
أ - التـــــزاوج : إنتقال المادة الوراثية بين خليتين ملتصقتين ببعضهما غالبا عن طريق شـــعيرة جنسية .
ب - الاستقطـــاع : إنتقال المادة الوراثية بين الخليتين بواسطة البكتريوفاج .
جـ - التحول الوراثى : انتقال المادة الوراثية الحرة المستخلصة من خلية مانحة إلى خلية مستقبلة

أولاً : التحول الوراثى : Transformation

تجارب جريفث

يعتبر اكتشاف وتفهم عملية التحول الوراثى ، من أهم التطورات التى حدثت فى السنين الأخيرة فى مجالات العلوم البيولوجية ، وبالأخص فى مجال الوراثة ، وهذا الإكتشاف هو الذى أعطى إثباتاً كبيراً على أن الدنا هو الحامل للصفات الوراثية ، ونتيجة لذلك ، فقد ظهر مايعرف بعلم البيولوجيا الجزيئية Molecular biology (*) .

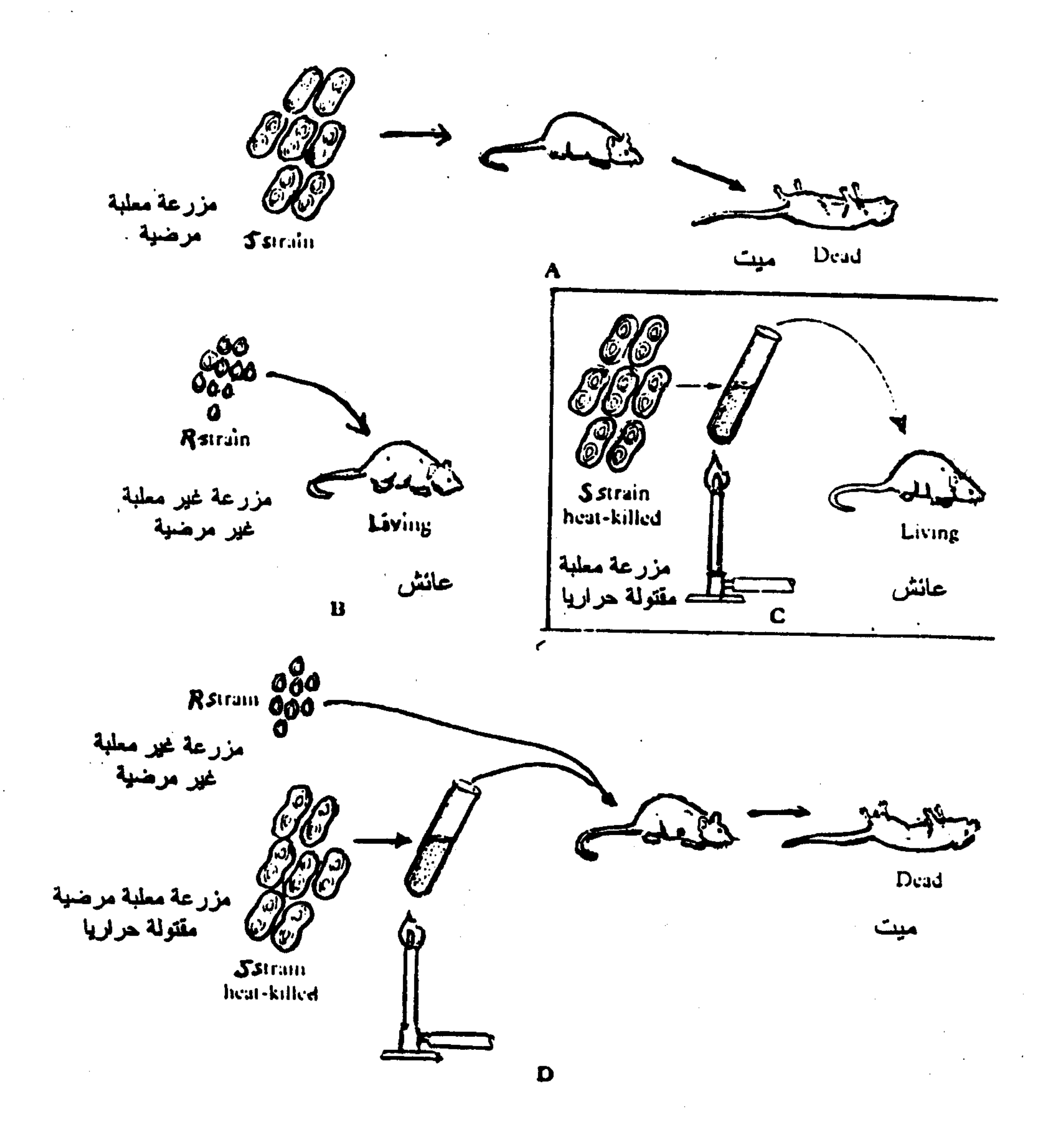
ولقد بدأت قصة إكتشاف التركيب الكيميائى للجينات منذ عام ١٩٢٨ ، عندما قام Griffith عام ١٩٢٨ ، بتجربته المشهورة عن عدوى الفئران ببكتريا *Streptococcus pneumoniae* المسببة للالتهاب الرئوى فى الانسان ، كما أنها بكتريا شديدة العدوى للفئران ، وتلقيح الفأر بجزء من بصاق المريض يسبب موت الفار خلال ٢٤ ساعة ، وعند موت هذا الفأر نجد أن البكتريا موجودة بكثرة فى قلب ودم الحيوان . والمعروف أن الضراوة الامراضية لبكتريا الالتهاب الرئوى ، ترتبط بوجود العلبة Capsule ، التى تحمى الميكروب من أثر الجهاز المناعى للجسم ، ومعروف أيضا أنه يتم تقسيم بكتريا النيمونيا الى سلالاتها المختلفة التى تصل الى أكثر من ٨٠ سلالة ، طبقاً للخواص السيرولوجية لمادة العلبة . وعادة ماتتكون سلالات بدون علبة نتيجة التطفر ، تسمى طفرات ذات سلالات خشنة R- type mutants, Rough form ، وهى سلالات فاقدة للقدرة الامراضية ، بينما السلالات المعلبة تسمى سلالات ناعمة S-type, Smooth form ، وهى سلالات عالية القدرة الامراضية ، وصفة تكون العلبة صفة وراثية مرتبطة بالسلالة .

بعد معرفة هذه الخصائص لبكتريا النيمونيا نعود لتجربة جريفث ، فقد حقن جريفث سلالة (أ) حية غير معلبة (R) غير مرضية فى فأر ، ومخلوط معها سلالة (ب) أخرى مرضية معلبة (S) ، ولكنها مقتولة حراريا ، وكانت النتيجة مدهشة حيث مات الفأر ، وعندما عزلت السلالة المسببة للموت من دم الحيوان ، وجد أنها سلالة معلبة من النوع (ب) ، وهذا الذى حدث لايتأتى إلا بتفسير واحد ، وهو أن السلالة المعلبة الميتة (ب) أحدثت تحولاً وراثياً Transformation للسلالة (أ) غير المعلبة الحية ، وأعطتها صفة القدرة على تكوين العلبة ، وبالتالى صفة الضراوة الامراضية ، ونظرا لأن السلالة (أ) إكتسبت علبة من النوع (ب) ، فأنها تحولت من النوع (أ) غير المعلب ، غير الممرض ، الى النوع (ب) المعلب الممرض ، حيث أن تمييز السلالات يكون عن طريق العلبة ، والشكل[٨ (٢) -٢] يوضح ملخصا لهذه التجربة .

ولقد أثبتت التجارب التى أجريت بعد ذلك لمدة ثلاث سنوات ، أن الفار لم يكون إلا دليلاً أمكن به تتبع وإثبات التحول ، وأن الفار ليس ضرورياً لحدوث هذا التحول الوراثى ، وأن مثل هذا التحول يمكن أن يحدث فى أنبوبة الاختبار فى المعمل ، وذلك بتنمية مزرعة R فى

(*) البيولوجيا الجزيئية Molecular biology ، هو العلم الذى يدرس مكونات الخلية على أقل مستوى جزيئى ، حيث يبحث التركيب الجزيئى للجينات وخواصها ووظائفها ، والفعاليات الحيوية الجزيئية التى تتم فى الجسم الحى .

ملخص لتجربة جريفث



شكل ٨ (٢)-٢ : تلخيص لتجربة جريفث التى كانت بداية لاثبات عملية التحول الوراثى فى البكتريا .

A : موت الفأر المحقون ببكتريا النيمونيا (S) ذات العلبة .

B : عدم موت الفأر المحقون ببكتريا النيمونيا (R) عديمة العلبة .

C : عدم موت الفأر المحقون ببكتريا النيمونيا (S) ذات العلبة المقتولة حراريا .

D : موت الفأر المحقون ببكتريا النيمونيا المحولة وراثيا .

وجود بكتريا S مقتولة حرارياً ، كما ثبت بعد هذا بعام آخر ، أن التحول الوراثى يمكن إحداثه بإضافة مستخلص خالى من الخلايا ، مأخوذ من مزرعة S ، ويضاف الى مزرعة حية R .

ويلخص الشكل [٨ (٢) – ٣] ، أحداث تجربة التحول الوراثى التى أجريت بالمختبر ، فى أنبوبة إختبار .

أ – تنمية المزرعة المعلبة

ب – اعداد عامل التحول

تحلل
ترسيب
مستخلص
خالى من الخلايا
عامل التحول

جـ – عملية التحول للسلالة (R)

سلالة غير معلبة
عامل التحول
تكون أفراد معلبة

شكل ٨ (٢) -٣ : إحداث التحول الوراثى فى بكتريا *Streptococcus pneumoniae* ، التى تحدث فى أنبوبة الاختبار.

إثبات أن الدنا هو المسئول عن التحول الوراثى

فتحت تجارب جريفث الطريق أمام غيره من العلماء ، فقام Avery وزملاءه بفصل مكونات المستخلص المأخوذ من الخلايا (S) الذى سبب التحول الوراثى ، للبحث عن العامل الاساسى Transforming principle المسبب لهذا التحول ، ولقد وجدوا أنه بإمكانهم إزالة البروتين واللبيدات والكربوهيدرات والريبونيوكلييك من مستخلص الخلايا ، بدون أن يفقد هذا المستخلص قدرته على إحداث التحول ، وأخيرا تمكنوا من التأكد من أن العامل المسؤول عن التحول الوراثى هو الدنا ، وان إضافة كمية تصل الى جزء من كل ٦×١٠^٨ جزء من الدنا النقى المعزول ، كافٍ لاحداث تحول R ← S .

كما اتضح أن الدنا المأخوذ من سلالة S ، ليس فقط قادرا على تحويل سلالة R الى S بشكل دائم ، ولكن أيضا ظهر أنه يتضاعف داخل الخلية التى استقبلته ، بحيث يحمل كل نسلها الصفة المنقولة ، وعلى هذا فان الدنا ، لابد وأن يكون هو الحامل للصفات الوراثية فى البكتريا .

وعندما نشرت عام ١٩٤٤ بحوث Avery , MacLeod and McCarty ، التى تقول بأن الدنا هو الحامل للصفات الوراثية ، قوبل ذلك بدهشة وعدم تصديق ، حيث كان المعتقد فى ذلك الوقت أن حامل الصفات الوراثية هو بروتين يوجد فى النواه ، بل أن بعض علماء ذلك الوقت عزوا قدرة الدنا المعزول على إحداث التحول ، الى إحتوائه على كميات ضئيلة جدا من البروتين لايمكن ملاحظتها .

ونتيجة لهذه المناقشات ، قام Avery وزملاؤه بتجارب أخرى لإثبات أن الدنا وليس البروتين هو حامل الصفات الوراثية ، ولقد وجدوا من تجاربهم أنه بمعاملة الدنا المستخلص بمختلف الانزيمات المحللة للبروتين ، فان الدنا لم يفقد قدرته على إحداث التحول الوراثى ، بينما بتعريض المستخلص ولو لفترة قصيرة جدا لانزيم Deoxyribonuclease المتخصص فى تحليل الدنا ، أفقد الدنا قدرته على إحداث التحول ، فإذا صمم المتمسكون على نظرية أن البروتين هو المسئول عن الصفات الوراثية ، فإنه يلزمهم إعطاء تفسير ، لماذا قاوم هذا البروتين التحلل الانزيمى .

وبعد ذلك تمكن Hotchkiss عام ١٩٤٩ ، من خفض مقدار التلوث بالبروتين فى الدنا النقى المعزول الى ٠,٠٢% دون أن يفقد قدرته على التحول الوراثى ، ورغم هذه الدرجة من النقاوة للدنا ، فان معارضوا نظرية أن الدنا هو الحامل للصفات الوراثية تشبثوا برأيهم ، ولم يستقر الوضع للدنا كحامل للصفات الوراثية حتى منتصف الخمسينات ، عندما أصبحت المعلومات المتاحة عن الدنا كافية ، لتصور كيف يحمل الصفات الوراثية المختلفة .

ومن ناحية أخرى ، فقد دارت مناقشات حول هل التحول الذى حدث للسلالة R ، هل هو تحول وراثى أم مجرد تحول فسيولوجى ، نتيجة أن الدنا أحدث توازنا فى دورة تكوين مادة العلبة ، فجعل السلالة R قادرة ثانية على تكوين العلبة ، وطبعا فإن مثل هذا التفسير لو كان قد أخذ به ، لهدم نظرية أن الدنا هو الحامل للصفات الوراثية ، ولقد أثبتت Harviet Taylor عدم صحة هذا ا لافتراض .

ثم بعد هذا أوضح Hotchkiss ، أن عملية التحول الوراثى ليست مقصورة على تكوين العلبة فى بكتريا الالتهاب الرئوى فقط ، فقد أمكنه نقل صفة المقاومة للبنسلين (Pen^r) من سلالة بكتيرية مقاومة للبنسلين ومن النوع S ، الى سلالة حساسه له (Pen^s) وفى نفس الوقت من النوع R ، وأمكنه بهذا أن يحول سلالة من $Pen^s\ R \longrightarrow Pen^r\ S$ ، وبهذا أثبت أن الدنا لهذه البكتريا لايحمل فقط صفة تكوين العلبة ، ولكنه يحمل أيضا صفة المقاومة للمضاد الحيوى ، وان صفة العلبة وصفة المقاومة للمضادات الحيوية ، تحمل على جزيئات مختلفة من الدنا ، ولهذا فان التحولات لكل منهما تحدث منفصلة عن الآخر .

كما أمكن Hotchkiss أيضا إثبات أن عملية التحول الوراثى الى صفة المقاومة للبنسلين ، هى عملية تدريجية ، ويلزم للبكتريا حدوث أكثر من تحول وراثى حتى تكون مقاومتها للبنسلين عالية ، مما جعله يستنتج أن عملية التحول من حساس الى عالى المقاومة للبنسلين ، يلزمها دخول أكثر من جزىء دنا مختلف ، أو حدوث أكثر من تحول وراثى فى الخلية البكتيرية المستقبلة ، حتى تصبح عالية المقاومة للبنسلين .

يتضح مما سبق ، ان اكتشاف عملية التحول الوراثى Transformation ودراستها ، هى التى فتحت الطريق لمعرفة طبيعة العامل الحامل للصفات الوراثية فى البكتريا ، وبالتالى فى مختلف الكائنات الحية ، وهو الدنا .

وقد لوحظت عملية التحول الوراثى فى اجناس محدودة من البكتريا ، ولكن الأجناس التى يكتشف فيها حدوث هذه العملية فى زيادة مستمرة ، كما لوحظ أيضا أنه فى كل نوع من أنواع البكتريا التى يحدث فيها التحول الوراثى ، توجد سلالات معينة فقط هى التى يحدث فيها التحول .

ومن أهم أنواع البكتريا التى لوحظ فيها التحول الوراثى ، هى

Bacillus subtilis, E. coli, Haemophilus, Methylococcus capsulatus , Neiesseria, Pseudomonas sp., *Rhizobium, Streptococcus pneumoniae & Thermoactinomyces*

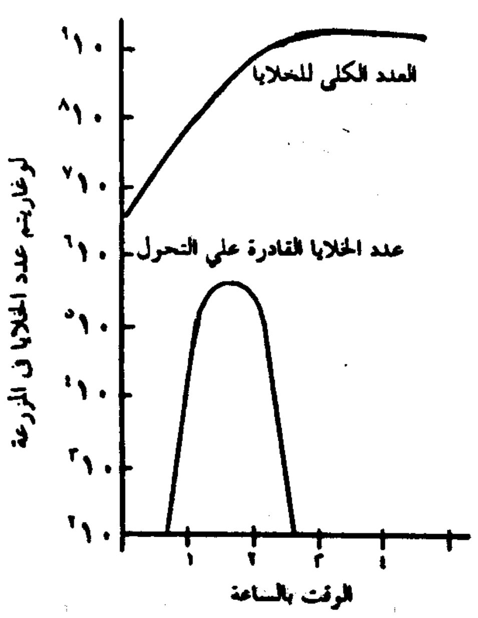
ومن السيانوبكتريا ، النوع ***Anacystis nidulans***

وقد كان لسهولة عزل الدنا من البكتريا لاستخدامه فى عمليات التحول ، وأيضا لإمكانية إجراء الدراسات الكيميائية والفيزيائية عليه ، الأثر الكبير فى فتح الطريق أمام دراسات البيولوجيا الجزيئية ، وامام حدوث ماتم من تطور ضخم فى علم الوراثة .

ظاهرة القدرة على التحول الوراثى : Competence

ليست كل خلايا السلالة البكتيرية المستقبلة Recipient cell ، قادرة على التحول الوراثى ، ولكن بعض هذه الخلايا فقط هى القادرة على استقبال الدنا وإحداث هذا التحول ، وتسمى الخلية القادرة على الاتحاد الوراثى ، خلية قادرة Competent cell ، ويرتبط عدد خلايا السلالة من النوع الواحد القادرة على التحول الوراثى ، بحالة الخلية الفسيولوجية والغذائية ، وعمر المزرعة . ويحتمل أن هذه الخلايا القادرة ، تفرز خارج خلاياها عامل بروتينى ، يعمل على ربط أجزاء الدنا المحول فى مواقعه المحددة على السطح البكتيرى .

فإذا تم رسم علاقة بين عمر المزرعة والخلايا القادرة على التحول Competent فإننا نحصل على المنحنى [شكل ٨ (٢) - ٤] التالى



شكل ٨ (٢)-٤: العلاقة بين عمر المزرعة والقدرة على التحول الوراثى

ونستنتج من منحنى شكل [٨ (٢) - ٤] الآتى

١ - أن ظاهرة القدرة على التحول الوراثى Competence لاتظهر فى كل خلايـــا المزرعـــة ، ولكن فى نسبة محدودة فقط .

٢ -أن ظاهرة القدرة على التحول الوراثى تظهر فجأة ، ويصل أقصاها فى منتصـــف الطـــور اللوغاريتمى تقريباً ، ثم تتناقص بسرعة بعد ذلك .

وهناك شواهد أكيدة تبين أنه خلال فترة التحول الوراثى ، فأن سطوح الخلايا البكتيريـة يحدث فيها تغير يجعلها أكثر قدرة على أستقبال الدنا . وقد أمكن بعد ذلك إحداث هذا التغير فـى سطوح الخلايا فى المعمل بطريقة انزيمية ، وأصبحت الخلايا بالتالى قادرة على التحول الوراثـى وذلك باستخدام انزيم معزول ، أو مستخلص من خلايا قادرة على التحول الوراثى .

أخذ الخلايا للــدنا فى عملية التحول الوراثى : DNA uptake

نحصل على الدنا الحر من الخلية المانحـــة ، بتحليـــل Lysis الخليـــة المانحـــة ، أو بالاستخلاص الكيميائى ، وعندما يضاف دنا حر الى خلايا مستقبلة قادرة على التحول الوراثـــى Competent ، فان الخلايا تأخذ الدنا ، ويتحد مع سطوحها اتحادا عكسيا فى البداية ، ثـــم بعـــد ذلك يصبح الاتحاد غير عكسى ، بحيث لايمكن فصل الدنا عن الخلايا مرة أخـــرى إلا بتكســـير الخلايا .

وعند أخذ الخلايا للدنا ، فقد لوحظ الآتى

- تستطيع الخلايا القادرة على التحول الوراثى ، أن تمسك أو تتحد مع كمية من الدنا حوالـــى ١٠٠ مرة أكثر من الخلايا التى ليس لها القدرة على التحول الوراثى Non-competent .

- فى الخطوة الأولى من التحول الوراثى ، لاتستطيع الخلايا أن تميز بين أى نوع من أنـــواع الدنا .

- يشترط للدنا الذى يتحد مع الخلايا أن يكون مزدوج السلسلة Double helix ، امـــا إذا كـــان أحادى السلسلة فأن إتحاده يكون ضعيفاً ، وقد أمكن إثبات ذلك ، بتسخين الدنا ، حيث يحـــدث له انصهار ، أى انفصال للسلاسل المزدوجة وتتكون سلاسل فردية ، وتصبح غير قادرة على إحداث التحول الوراثى .

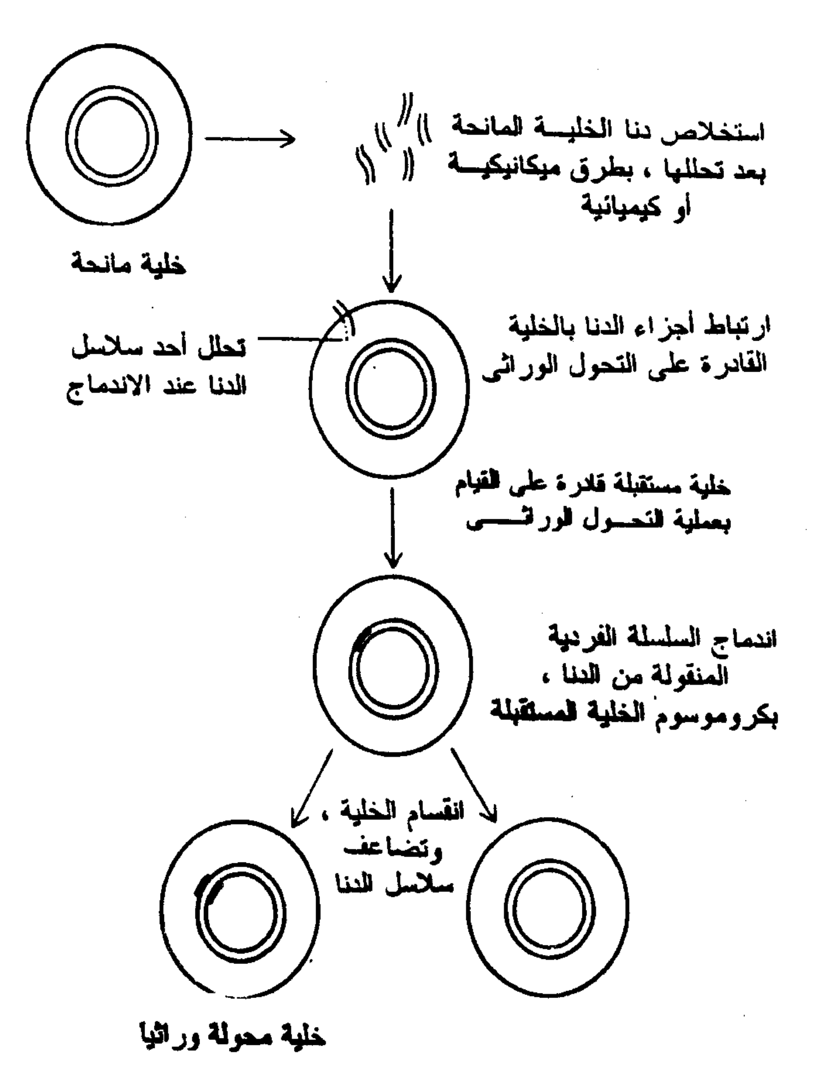
- عملية إتحاد الدنا مع الخلايا القادرة يكون سريعاً جداً ، فالعملية تتم فـــى ظـــرف ٥ الـــى ١٠ دقائق .

- لاتستطيع الخلية الواحدة ، أن تستقبل أكثر من ١٠ أجزاء من الدنا (كل جزء به حوالـــى ٥٠ جين) ، ولما كانت الصفة المطلوب نقلها (جين معين) ، موجودة على جزء واحد مـــن كـــل ١٠٠ جزء من الدنا المأخوذ من السلالة المانحة ، فمعنى هذا من الناحية النظرية ، إن احتمال نقل الصفة المطلوب نقلها ، لايمكن أن يحدث فى أكثر من ١٠% من الخلايا القـــادرة علـــى الاستقبال ، ولكن من الناحية العملية ، فإن النسبة لاتزيد عن ٠,١ - ١% من الخلايا .

اندماج الدنا فى جينوم الخلايا المستقبلة : Integration of DNA

لوحظ أنه أثناء دخول الدنا فى الخلية المستقبلة ، فانه يتحول بسرعة الى سلسلة فردية، وتختفى السلسلة الأخرى بانزيم Deoxyribonuclease ، والسلسلة الفردية الباقية هى التى تندمج مع الجينوم .

والميكانيكية التى يتم بها الاندماج بين السلسلتين غير واضحة تماما حتى الآن ، ولكن من الممكن أن يزدوج هذا الجزء المفرد ، مع القواعد المكملة له فى جينوم الخلية المستقبلة ، ثم بعد ذلك يندمج معه ، وفى أثناء انقسام وتضاعف الدنا ، فان أحد سلاسل الخلية الأصلية مع الجزء الذى دخل ، يكونان جزءا من السلسلة المزدوجة ، وبهذا يتم تحول الخلية المستقبلة [شكل ٨ (٢)- ٥] .



شكل ٨ (٢)-٥ : الخطوات الأساسية فى عملية التحول الوراثى .

تلازم الصفات فى التحول الوراثى

تعتبر ظاهرة انتقال الدلائل (الصفات) الجينية المتلازمة * Linked genetic markers من الأشياء الهامة ، والتى تفيد فى عمل الخريطة الكروموسومية ، وفى هذه الظاهرة ، يتم نقل صفتين يقعان على نفس الجزء من الدنا المنقول .

ولتفسير هذه الظاهرة يجب أن نعلم

١ - أن جينوم خلية البكتريا مكون من حوالى ٥ آلاف جين ، وكل جزء مقتطع ، به حوالى ٥٠ جين، وعلى هذا فان فرصة نقل ٢ جين (مختارين) عشوائيا فى وقت واحد ، فرصة ضئيلة جداً ، ورغم ذلك ، فقد لوحظ كثيرا انتقال صفتين متلازمتين .

٢- يمكن اكتشاف الصفات المتلازمة بسهولة ، لو استخدمنا خلايا مستقبلة ، بها طفرة مزدوجة لصفتين متلازمتين ، فاذا ماخلطنا هذه الخلايا المستقبلة (وتكون ذات قدرة على التحول الوراثى ، Competent) مع خلايا سلالة مانحة ، ثم اختبرنا الناتج لتحول الخلايا المستقبلة Recepient تحولاً مزدوجا للصفتين ، فان حدوث هذا التحول المزدوج بنسبة عالية ، يؤكد أن الصفتين متلازمتين .

٣- ان الخلية البكتيرية يمكنها أن تستقبل ١٠ أجزاء من الدنا ، لهذا فقد يقال ان تحول الخلية للصفتين ، قد يكون مرجعه أن الخلية أخذت بالصدفة جزئين مختلفين من الدنا يحملان الصفتين ، وبهذا حدث التحول لهما معاً ، دون أن يكون موقعهما متقارب على الكروموسوم .

وللتأكد من أن الصفتين انتقلتا معا لتلازمهما على الكروموسوم ، وليس على جزئين مختلفين من الدنا . فإنه يمكن معرفة ذلك من دراسة العلاقة بين مدى تلازم الصفات ، وبين تركيز الدنا المستخدم فى إحداث التحول .

فمن المفترض أنه مع تناقص تركيز الدنا المستخدم ، فان معدل التحول المزدوج سوف ينخفض بسرعة ، لو كان هذا التحول المزدوج ناتجا عن دخول جزئين مختلفين من الدنا حاملين للصفتين ، لأن إنخفاض تركيز الدنا يقلل من فرصة دخول جزئين من الدنا فى الخلية المستقبلة، أما إذا كانت الصفتين متلازمتين على الكروموسوم ، فان معدل انخفاض انتقال الصفتين لايكون سريعا مع انخفاض التركيز .

* أنظر تذييل ص ٦٢٥ .

أهمية عملية التحول الوراثى : Importance of transformation

تتلخص أهمية عملية التحول الوراثى فى النقاط التالية

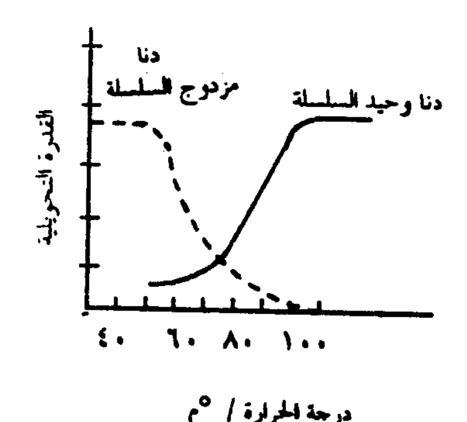
١ - وضعت عملية التحول الوراثى الأسس الخاصة بدراسة البيولوجيا الجزيئية ، والوراثة الجزيئية ، وعمل الخرائط الجينية ، على أساس أن عملية التحول الوراثى أثبتت أن الدنا هو المادة الحاملة للصفات الوراثية فى الخلية .

٢ -تعتبر عملية التحول الوراثى هى الأداة الأساسية فى الدراسات الوراثية الجزيئية ، على أساس أنها الطريقة الوحيدة التى يستخدم فيها دنا حر بدون تدخل من أى عامل آخر ، مما سهل من دراسة العلاقة بين الصفات الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية للدنا .

٣ -سهلت عملية التحول الوراثى دراسة الأسس الفيزيائية والكيميائية التى تعمل على أساسها العوامل المطفرة ، فقد أمكن استخدام هذه العوامل مباشرة فى معاملة الدنا الحر ، ومعرفة أثرها عليه ، ومن ثم أمكن معرفة آثارها البيولوجية .

٤ -تعتبر دراسة تأثير الحرارة على الدنا ، من العوامل الهامة ، التى أدت الى اكتشافات هامة فى مجالات الوراثة الجزيئية .
فجزىء الدنا يحمل صفاتاً محددة وبطريقة دقيقة ، والتسخين الزائد يؤدى الى حدوث أضرار لجزىء الدنا ، منها فقده لمجاميع البيورين الموجودة به Depurination، مما يفقده وظائفه ، فقد وجُد أن الجينات المرقمة (الموسومة) Marked ، التى تحتوى على نسبة عالية من البيورين ، قد أحبطت أسرع من تلك المحتوية على نسبة قليلة منه ، كما أن الجينات طويلة السلسلة ، قد أحبطت أسرع من القصيرة .

٥- أفادت نتائج الدراسات الحرارية للدنا أيضا فى دراسة العلاقة بين الصفات الوراثية ووجودها فى دنا ذو سلسلة مفرده أو مزدوجة ، فإذا تم تسخين مستحضر من الدنا ببطء ، وأخذنا عينات منه على فترات ، لدراسة قدرتها على التحول الوراثى[شكل ٨ (٢)- ٦] ، فإننا سنجد أن هناك مدى ضيقا محدودا ، يفقد عنده الدنا قدرته على التحول فجأة .



شكل ٨ (٢)-٦

تأثير الحرارة على القدرة التحويلية لجزىء الدنا

ولقد أظهرت الدراسات الفيزيائية أن الدنا ينصهر ، ويتحول الى سلاسل مفـــردة عنـــد اللحظة التى يفقد فيها قدرته التحويلية Transforming activity ، فإذا ماأعدنا تبريد الدنـــا المنصهر ببطء ، الى درجة أقل من درجة إنصهاره المعتاده ، فانه يستعيد جزءاً من قدرتـــه التحويلية ، كما تستعيد بعض جزيئاته صفة السلسلة المزدوجة ، ولاتحدث هذه الخاصية فـــى حالة التبريد السريع .

٦- بالتحول الوراثى يمكن عمل هجين صناعى Artificial DNA hybrid من الدنا ، وذلـــك اذا خلطنا نوعين مختلفين من الدنا ، ثم سخناهما معاً حتى ينصهران ، ثم بردنا المخلوط ببـــطء عند درجة حرارة أقل مباشرة من درجة الانصهار ، وحضّنا المخلوط عند هذه الدرجة حتى تتكون سلاسل مزدوجة ، ففى هذه الحالة ، قد يتكون هجن من نوعى الدنا المختلفيـــن ، وإن كان هذا لايمكن حدوثه إلا إذا كان النوعين الذين أخذا منهما الدنا ، متقاربين .

ومثل هذه الدراسة هامة من حيث أنها

أ - تثبت بطريقة قاطعة نظرية تكامل سلسلتى الدنا .

ب - تساعد فى عمليات التصنيف البكتيرى ، باثبات وجود صلة أو تقارب بين مجموعتيـــن من البكتريا ، إذا أمكن إجـــراء التقنيـــة الخاصـــة بعمليـــة تـــهجين الدنـــا بينـــهما ، DNA hybridization .

حدوث التحول الوراثى فى الطبيعة : Transformation in nature

يلاحظ أن كل دراسات التحول الوراثى التى ناقشناها سابقاً ، قد حدثت فى المعمل فـــى مزارع نقية ، ومع هذا فهناك من الشواهد مايؤكد أن عملية التحـــول يمكـــن أن تحـــدث فـــى الطبيعة ، ففى الطبيعة ، قد تتحلل سلالة ميكروبية ، وينتقل الدنا الناتج منها الى ســـلالة أخـــرى تنمو مجاورة لها ، ومع هذا ، فان مثل هذه الحالة نادرة الحدوث ، لأن الدنا الخارج من الخليـــة المتحللة ، لايوجد مايحميه من الـــ DNase الذى ينفرد من نفس الخلية المتحللة أيضا .

ثانياً : الاستقطاع (الانتقال الوراثى عبر الفاج) Transduction

فى هذه التقنية يتم انتقال جزء من المادة الوراثية ، من سلالة من البكتريا (A) المانحة الى سلالة أخرى (B) المستقبلة ، من خلال فيروس قادر على غزو هذه السلالات البكتيرية ، ويعمل الفيروس كناقل Vector للمادة الوراثية ، وأول من اكتشف هذا النوع من انتقال الصفات الوراثية فى البكتريا هما العالمان **Lederberg & Zinder** عام ١٩٥١ .

وقبل أن ندخل فى تفاصيل ميكانيكية حدوث الاستقطاع ، فإنه لابد من التعرف على بعض العلاقات الموجودة بين الفيروس والبكتريا العائلة له .

ظاهرة البكتريا الليسوجينية : Lysogenic bacteria

عندما تغزو الفيروسات اللاقمة Bacteriophages ، السلالات المتخصصة لها من البكتريا، فإن الفيروس يحقن حامضه النووى الدنا بداخل البكتريا ، ثم يتضاعف حامض الدنا بسرعة موجها الخلية البكتيرية لتخليق فاجات جديدة ، وفى خلال ١٠-٢٠ دقيقة حسب طبيعة الفاج ، فإنه يتم تكوين الجزيئات الكاملة من الفاج ، التى تخرج بأعداد كبيرة من الخلية البكتيرية بعد تكسيرها لجدار البكتريا الخلوى ، وتحليلها للخلية البكتيرية .

ورغم ذلك ، فقد اكتشف أن هناك سلالات من بكتريا *E. coli* تحمل اللاقمات حملا دائما دون أن تتحلل ، أو يظهر عليها أى مظهر خارجى غير عادى ، ويطلق على هذه السلالة البكتيرية فى هذه الحالة اسم سلالة ليسوجينية [١] Lysogeny .

وتلى ذلك اكتشاف ظاهرة الليسوجينية[١] هذه ، فى بكتريا أخرى غير بكتريا *E. coli* ، وأصبح مؤكدا أن السلالة البكتيرية التى تحدث بها هذه الظاهرة ، يتكاثر الفيروس مع تكاثرها ، ويكون كل نسلها محتويا على الفيروس فى حالة ليسوجينية Lysogeny ، وان الفيروس فى هذه الحالة يعتبر فى حالة فيروس أولىء[٢] بروفاج Prophage .

ويلاحظ أنه قد يحدث فى نسبة قليلة من أفراد بكتريا المزرعة الليسوجينية ، حث للفاج الأولى Induction ، ليتحول الى فاج نشط قادر على تحليل Infective phage هذه الخلايا القليلة من البكتريا .

ومن ناحية أخرى ، فانه يمكن تنشيط الفيروس الاولى فى المزرعة الليسوجينية ، وبهذا يحدث تحلل للمزرعة البكتيرية كلها ، بدلاً من النسبة القليلة من الخلايا البكتيرية التى تتحلل بالتنشيط الذاتى . ولقد وجد أن المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية تؤدى هذا الغرض . ولقد

---

(١) خاصية تكوين المواد الحالة ، الاستذابة ، Lysogeny, Lysogenesis ، هى الظاهرة الخاصة باندماج البروفاج فى كروموسوم البكتريا ، وبذلك تصبح البكتريا حاملة له ، ويتكاثر مع البكتريا دون أن يحللها .

(٢) فيروس أولى ، بروفاج Prophage :

دنا الفيروس المعتدل (الهادىء) Temperate phage الذى يندمج مع دنا نواة خلية العائل ، وينقسم مع انقسامات خلية العائل ، ويصبح وكأنه صفة وراثية بالخلية ، ويبقى بها دون أن يحللها ، وينتقل مع الخلية عند تكاثرها .

وأنظر تذييل ص ٥٩٦ .

أظهرت دراسة أجريت على مزرعة *E. coli* ليسوجينية ، أنه بعد حوالى ٧٠ دقيقة من المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية ، حدث تحلل مفاجىء لكل الخلايا التى فى المزرعة ، وانفردت حبيبات الفيروس بأعداد كبيرة ، تصل فى المتوسط الى ٢٠٠ فاج لكل خلية من المزرعة المتحللة .

كما وجد أن الخلايا البكتيرية الليسوجينية أى المحتوية على البروفاج ، تصبح منيعة ضد الاصابة بفاج قادر على التحليل (Infective phage) من نفس نوع الفاج المصابه به . وإذا ماتمت عدوى مزرعة بكتيرية غير ليسوجينية بالفاج المعتدل Temperate phage[1] ، فانه يحدث لخلايا هذه المزرعة حالة من اثنتين

١ - دخول الخلايا فى دورة تحلل ، حيث يتضاعف الفاج داخل الخلايا ، وعندما تصبح الحبيبات الفيروسية ناضجة ، يحدث تحلل للخلايا البكتيرية ، وتنفرد حبيبات الفيروس ، وذلك كما يحدث فى حالة الفاج العادى .

٢- دخول الخلايا فى حالة ليسوجينينة ، حيث يصبح الفاج بعد دخوله الخلايا فى حالة فاج أولى Prophage ، وتتكاثر البكتريا طبيعياً ومعها الفيروس دون أن تتحلل ، وذلك كما يحدث فى حالة الفاج الأولى .

واذا حدثت ظاهرة الحالة الليسوجينية ، فان الخلايا البكتيرية تبدو وكأنها اكتسبت صفة وراثية جديدة وثابتة ، وهى صفة وجود الفيروس داخلها دون أن تتحلل ، ولايحدث فقد لهذه الصفة إلا فى قليل جداً من خلايا المزرعة ، فيقال على هذه الخلايا أنها شفيت Cured ، ومن الصعب قياس معدل حدوث الشفاء فى المزرعة الليسوجينية ، ولكن أمكن قياسه فى إحدى مزارع *E. coli* ، ووجد أنه فى حدود ($١٠^{-٥}$) .

طبيعة الفاج الأولى : Naure of prophage

يتميز الفاج الأولى أولاً بعدم قابليته لغزو الخلايا البكتيرية أو تحليلها ، كما أنه لايحتوى على البروتينات التى يحتويها الفاج الكامل . ولكن فى نفس الوقت ، فقد اقترح أن البروفاج يحتوى على جينوم أقل من الفاج العادى .

ولقد تطورت دراسة البروفاج ، منذ أن اكتشف Lederberg سنة ١٩٥١ سلالة *E. coli* K_{12} فى حالة ليسوجينية للفاج Lambda (λ) ، والفاج (λ) له نفس صفات الفاجات التائية الزوجية T-even phages[2] ، وتتركب هذه الفاجات من رأس مليىء بالدنا ، وذيل اسطوانى ، ولكن كمية الدنا الموجودة فى رأس فاج λ ، تعادل ربع الكمية الموجودة فى رأس

---

[1] الفاج المعتدل Temperate phage ، فاج قادر على التكامل مع جينوم خلية البكتريا العائلة له ، ويسلك سلوك الفاج الأولى أو سلوك الفاج العادى ، وذلك حسب الظروف المحيطة (أنظر تذيل ص ٥٩٥) .

[2] فاجات تائية زوجية T-even phages ، فاجات بكتريا القولون ذات الارقام الزوجية T_2, T_4, T_6 ، وهى ذات رأس مكعب متعدد الأوجه ، ولها ذيل ، وحامضها النووى dsDNA ،

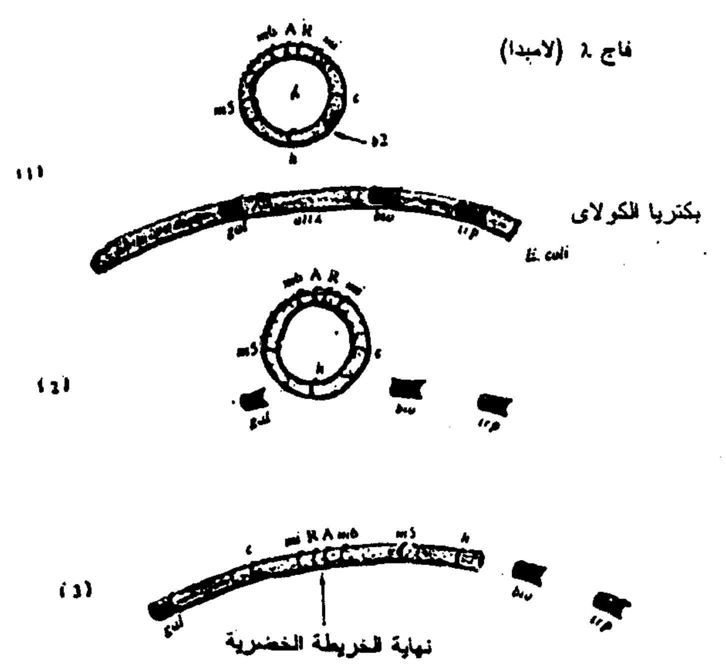
وتختلف الفاجات التائية الزوجية عن الفاجات التائية الفردية T-uneven phages T_1, T_3, T_5, T_7 ، فى بعض الصفات مثل الشكل والحجم والتركيب الكيميائى

T-even phages ، كما أن دنا الفاج (λ) له بعض صفات ، تشابه بعض صفات دنا سلالة البكتريا العائلة *E. coli* .

وَيكوِّن البروفاج داخل خلية *E. coli* مرتبطا مع كروموسوم الخلية ويتكاثر معه ، ومن ناحية أخرى ، فان فاجا آخرا مثل Coliphage P_1 ، اذا دخل فى حالة ليسوجينية مع *E. coli* ، فانه يتكاثر كمادة وراثية خارج الكروموسوم Extrachromosomal element توجد فى السيتوبلازم .

وفى حالة الفاجات التى ترتبط مع الكروموسوم ، فان هذا يحدث نتيجة تبادل جزء من مادة الفاج وجزء من كروموسوم البكتريا ، ولقد وجد أن الجزء من كروموسوم البكتريا الذى يحدث له تبادل مع الفاج فى حالة الفاج (λ) ، يقع فى المنطقة من الكروموسوم ، التى بين جينات تمثيل الجلاكتوز gal operon وتلك المسئولة عن تمثيل التربتوفان trp operon ، وتسمى هذه المنطقة ، منطقة موقع* التصاق الفاج (λ) lambda attachment locus (att λ) ، والمنطقة التى يحدث لها التبادل من كروموسوم البكتريا ، تتبادل مع منطقة من كروموسوم الفاج تسمى b_2 ، بحيث أن استخدامنا لطفرة من الفاج خالية من b_2 ، فإن الفاج يكون غير قادر على الالتصاق بكروموسوم البكتريا .

والشكل التوضيحى التالى[٨ (٢)- ٧] ، يوضح كيف يندمج البروفاج مع كروموسوم بكتريا *E. coli* .



شكل ٨ (٢) - ٧ : اندماج الفاج الأولى مع كروموسوم بكتريا *E coli* ،

attλ : موقع التصاق فاج λ ببكتريا الكولاى

gal, trp : جينات تخليق الجالاكتوز ، التربتوفان .

bio : جين الاحتياج للبيوتين .

m5, m6 , A,R, : مواقع جينية على الدنا .

mi , c , b_2, h : مواقع جينية على الدنا .

---

* موقع Locus (pl. Loci) : هو الموضع الذى يحتله الجين بالكروموسوم .

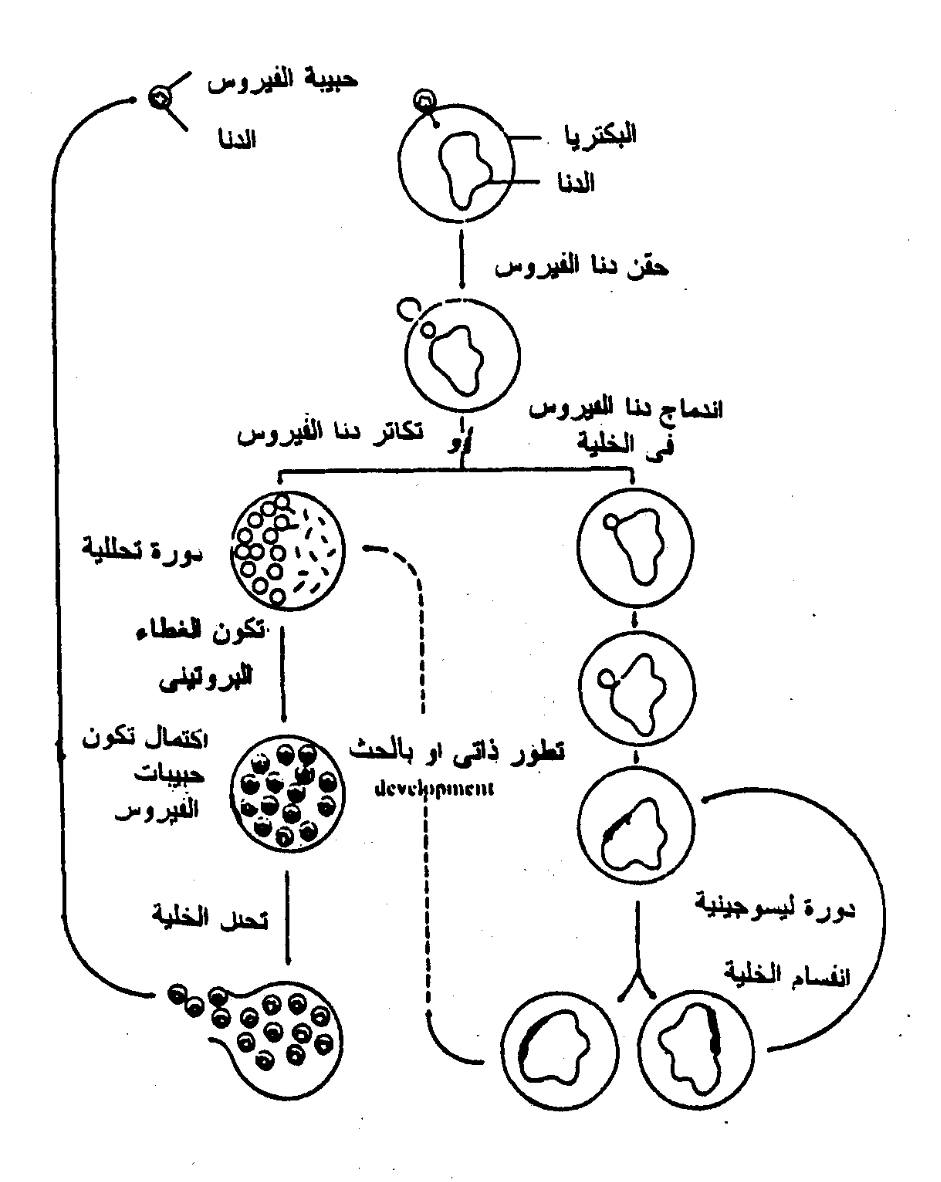
ويلاحظ

(١) أن دنا الفيروس يدخل الخلية البكتيرية بشكل مستقيم ، ثم يصبح دائريا ،

(٢) وإذا مادخل فى دورة تحلليه Lytic cycle ، فانه يأخذ الشكل المستدير

(٣) اما اذا اندمج فى حالة ليسوجينية مع كروموسوم البكتريا ، فانه يندمج مستقيماً .

والشكل التالى [٨ (٢)-٨] يوضح ملخصا لكل من الدورة التحلليه والدورة الليسوجينية .



شكل ٨ (٢)- ٨ : تلخيص لكل من الدورة التحللية والدورة الليسوجينية .

تعريف الاستقطاع

الاستقطاع هو انتقال أجزاء من الدنا محمولة على الفاج (الناقل) ، من خليـــة بكتيريـــة مانحة الى خلية أخرى مستقبلة .

فعندما يغزو فاج معتدل Temperate phage سلالة بكتيرية ، ويتحول فى الخلية الى بروفـــاج ، ويندمج مع الكروموسوم ليدخل فى دورة ليسوجينية ، فان الفاج المندمج مع كروموسوم الخليـــة البكتيرية قد يكون حاملاً معه جزءاً من كروموسوم الخلية البكتيرية التى كان موجوداً بها ســابقاً، وباندماجه فى الخلية الجديدة مع هذا الجزء الجينى المحمول معه ، فانه يعطى الصفات الوراثيـــة التى فى الجينات المحمولة معه ، للخلية المستقبلة .

ولقد لوحظ أنه ليست كل الفاجات المعتدلة قادرة على الاستقطاع ، كما أنه ليست كـــل سلالات البكتريا صالحة للاستقطاع . ولقد لوحظت ظاهرة الاستقطاع فى سلالات تابعة لأنـــواع من البكتريا مثل

. *E. coli, Proteus, Pseudomonas, Salmonella, Shigilla, Streptococcus, Bacillus* . etc

وتختلف عملية الاستقطاع كثيراً عن كل من عملية التحول الوراثى وعملية الـــتزاوج ، ولايمكن حدوث التباس بينها وبين هاتين العمليتين ، ويمكن تميـــيز الاســـتقطاع عـــن التحـــول والتزاوج بالآتى

١- الاستقطاع لايلزمه تلاصق الخلايا البكتيرية مع بعضـــها Cell to cell contact ، بعكـــس التزاوج .

٣- عملية الاستقطاع لايمكن إيقافها باستخدام انزيم الـــ DNase ، بعكس التحول الوراثى .

٣- يمكن تنقية العامل المسبب للاستقطاع ، بنفس الطرق المستخدمة فى تنقية الفيروسات .

٤- عملية الاستقطاع لاتحدث إلا فى السلالات البكتيرية التى فيها نقاط استقبال Receptor sites لنفس الفيروس .

٥- المضادات الحيوية التى تؤثر على الفيروس نتيجة إتحادها مع بروتين الذيل ، تمنع بالتـــالى حدوث الاستقطاع .

أنواع الاستقطاع

الاستقطاع نوعان ، عام ومتخصص

١- الاستقطاع العام Generalized transduction

فى هذا النوع من الاستقطاع ، وقد يســـمى أيضـــا بالاســـتقطاع غـــير المتخصـــص Non-specific ، يحمل الفاج معه عند دخوله الخلية المستقبلة ، أى جزء من جينوم الخلية التـــى أتى منها . ويسود الاستقطاع العام فى الفاجات السيتوبلازمية مثل Coliphage P1 ، الذى يحمل معه أى جينات بالصدفة عند دخوله دورة تحللية ، ثم ينقل الجينات معه عند غزو خلايا جديدة .

ولقد كانت بداية اكتشاف هذا النوع مـــن الاســـتقطاع بواســـطة Lederberg وتلميـــذه Zinder سنة١٩٥١، وذلك فى دراسة أجريت على بكتريا *Salmonella typhimurium* ، حيـــث قاما بزراعة سلالتين مع بعضهما ، الأولى تحتـــاج Phenylalanine, Tryptophan, Tyrosine (phe⁻ trp⁻ tyr⁻) ، والثانية تحتاج Methionine, Histidine (met⁻ his⁻) ، وكانت الزراعـــة على بيئة خالية من الأحماض الأمينيـــة ، أى أنه من المفـــروض أن كلا السلالتين لن تستطيعا

النمو عليها . ولقد لاحظ الباحثان أن نسبة تصل الى ١٠$^{-٥}$ من الخلايا المزروعة قد نمت على هذه البيئة ، وبالتالى أصبحت لاتحتاج الى أحماض أمينية لنموها ، وهذا النمو لايتأتى إلا إذا حدث نوع من انتقال العوامل الوراثية ، بحيث أمكن حدوث اتحاد الصفة (Phe^+ Trp^+ Tyr^+) من احدهما (السلالة الثانية) ، مع صفة (Met^+ His^+) من الأخرى (السلالة الأولى) .

وبعد هذا الإكتشاف ، تمكن الباحثان من ملاحظة حدوث مثل هذه الإتحادات الوراثية لصفات أخرى ، بين أنواع البكتريا المختلفة .

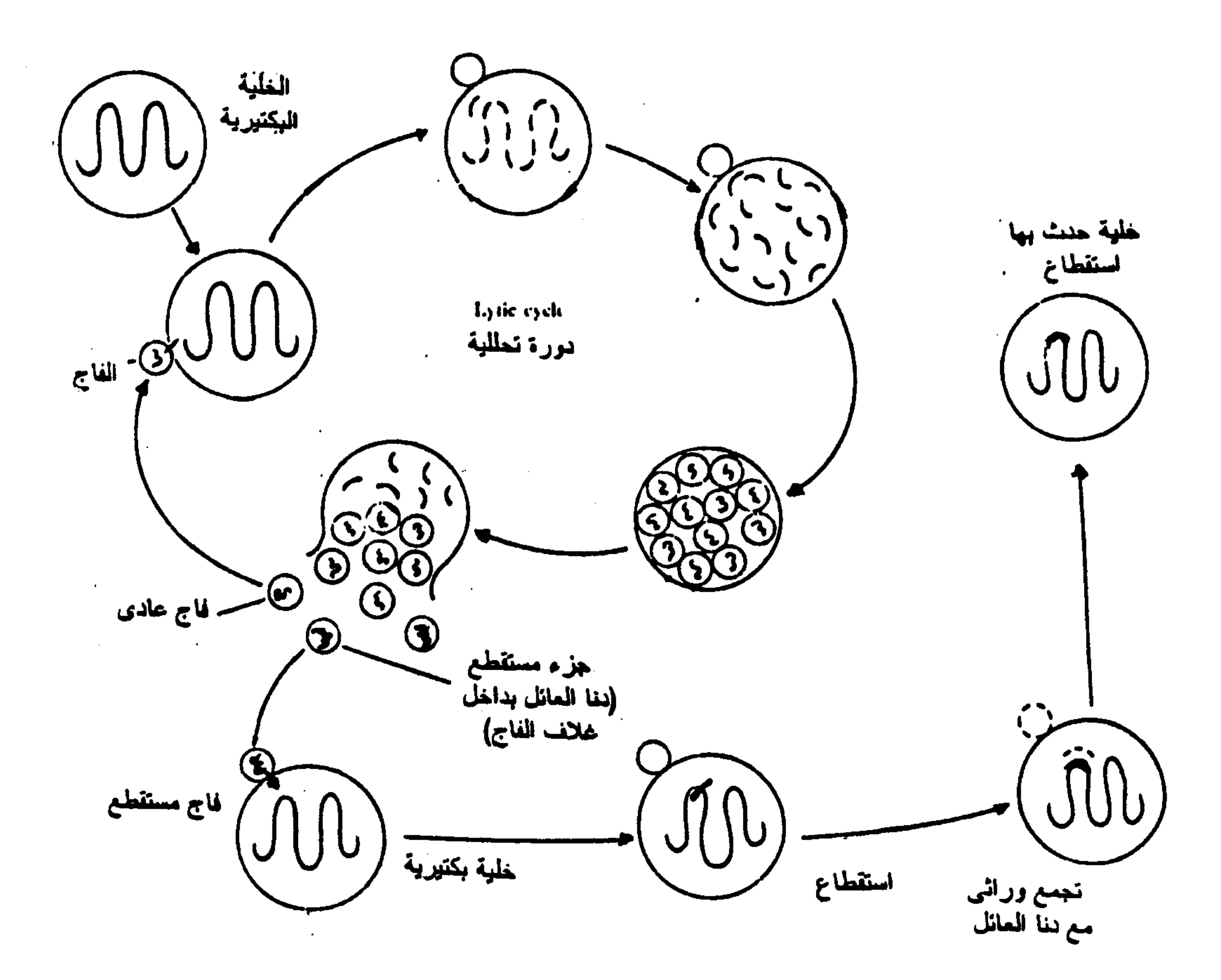
ولقد أظهرت الدراسات أن مثل هذا الانتقال الوراثى لايحتاج الى تلامس بين الخلايا ، وانه يتم حتى لو وضعنا كلا من السلالتين فى إحدى شعبتى أنبوبة دافز التى على شكل حرف U (Davis U-tube) ، التى يفصل شعبتيها مرشح غير منفذ لخلايا البكتريا . وقد اتضح من هذا أن انتقال العوامل الوراثية بين السلالتين ، يتم من خلال عامل ينفذ من خلال المرشحات المانعة لمرور البكتريا Filtrable agent (FA) ، ثم تبين بعد ذلك أن هذا العامل الناقل للصفات الوراثية هو فاج معتدل Temperate *Salmonella* phage P_{22} ، وأنه بالصدفة عندما أجرى الباحثان التجربة، كانت احدى السلالتين تحتوى على هذا الفاج فى صورة فاج أولى Prophage. ولقد كان هذا الاكتشاف ، هو بداية معرفة انتقال الصفات الوراثية عن طريقة الاستقطاع محمولاً على الفاج .

هذا النوع من الاستقطاع ماهو إلا إستقطاع عام ، وفيه يتم انتقال أى مجموعة من جينات السلالة المانحة الى السلالة المستقبلة . ويوضح الشكل [٨ (٢)- ٩] كيفية حدوث هذا النوع من الاستقطاع . .

وفى الاستقطاع العام ، نجد أنه اذا تعرضت سلالة بكتيرية حساسة الى فاج معتدل ، فانه قد تحدث دورة تحللية لقليل من الخلايا ، ويلى ذلك أن يتكسر دنا الخلية البكتيرية الى أجزاء صغيرة ، وبعضا من هذه الأجزاء قد يدخل داخل بعض حبيبات الفيروس الموجودة بالبكتريا ، وعندما تتحلل الخلايا البكتيرية ، تنطلق منها حبيبات الفيروس وأغلبها فيروسات عادية ، وقليل منها يكون حاملاً لأجزاء من كروموسوم البكتريا (أى فيروسات مستقطعة Transducting virus particles) ، فإذا عاملنا سلالة بكتيرية مستقبلة بناتج التحلل هذا ، فان خلايا البكتريا اما أن تدخل فى دورة تحللية ، أو تدخل فى دورة ليسوجينية ، ومن هذه الخلايا جزء ضئيل هو الذى تدخله حبيبات الفيروس الحاملة لجزء من جينات البكتريا ، وعندما يدخل الدنا المنقول بالفيروس إلى داخل الخلية البكتيرية ، فانه بالتالى يحدث تغيراً وراثيا بالنسبة لهذه الخلية البكتيرية المنقول اليها .

ولما كانت نسبة ضئيلة فقط من حبيبات الفيروس فى المادة المتحللة ، هى الحاملة لبعض جينات البكتريا ، وكل من هذه الفيروسات القليلة العدد يحمل جزءا ضئيلاً فقط من دنا البكتريا المانحة ، فان احتمال وجود حبيبة حاملة للجينات المدروسة ، أى التى نريد متابعتها لمعرفة مدى حدوث الاتحاد الوراثى ، هو فى الحقيقة احتمال ضئيل جداً ، بحيث أن خلية واحدة من كل ١٠^{٦} – ١٠^{٨} من الخلايا ، هو الذى يمكن أن يحدث فيها التحول الوراثى .

أما من ناحية الجزء المنقول من جينوم البكتريا محمولاً على الفاج ، فيلاحظ أن ذلك الجزء المنقول مع الفاج ، يماثل تقريبا الجزء المنقول فى عملية التحول الوراثى Transformation ، حيث يساوى حوالى ١/١٠٠ من جينوم البكتريا . ولذلك ، فإن الجينات المتلازمة فقط هى التى يمكن أن تنتقل مع بعضها فى الاستقطاع العام .



شكل : ٨ (٢) - ٩ : الاستقطاع العام .

والاستقطاع العام له فائدة كبيرة فى تقدير الارتباط Linkage بين الجينات ، إذ أن الجينات القريبة من بعضها ، كثيرا ماتنتقل مع بعضها فى حالة الاستقطاع ، وهذا يفيد فى عمل الخرائط الكروموسومية ، ويعود ذلك إلى أن الاستقطاع أكثر دقة فى تقدير الارتباط ، خاصة إذا علمنا أن الفاجات المستقطعة حالة نادرة ، بحيث يكون شبه مستحيل أن يدخل الخلية أكثر من فاج مستقطع ، وعلى ذلك فان حدوث الارتباط فى نقل الجينات بالاستقطاع ، لابد أن يكون سببه أنها محمولة على نفس الجزء المنقول .

وهناك ميزة أخرى للاستقطاع ، وهى أنه يمكن أن ننقل جزء قد يصل طوله من ٦ × ١٠^٧ إلى ١ × ١٠^٨ دالتون من جينوم البكتريا ، وهذا الجزء يزيد طوله عن ١٠ أضعاف الجزء المنقول فى التحول الوراثى ، وهذا يساعد فى دراسة الارتباط بين الجينات البعيدة عن بعضها البعض نسبياً على جينوم البكتريا ، مما يمكن معه المساعدة فى تحديد ابعاد هذه الجينات عن بعضها البعض على الكروموسوم البكتيرى .

٢- الاستقطاع المتخصص : Specialized transduction

تحدث عملية الاستقطاع العام كما ذكر سابقاً بنسبة ضئيلة جداً ، ولكن لوحظ فيما بعد أن هناك مجموعة من جينات البكتريا ، ينقلها الفاج بكفاءة كبيرة وبمعدل عال ، وهذا النوع يسمى الاستقطاع المتخصص .

وفى هذا النوع من الاستقطاع ، نجد أن جزءاً محدداً من جينات البكتريا العائلة ، هى التى يتم إتحادها مع جينوم الفاج ، ويتم ذلك باستبدالها بجزء من جينات الفاج ، وبعد ذلك يقوم الفاج بحمل هذه الجينات ، ونقلها إلى الخلية المستقبلة أثناء الحالة الليسوجينية .

ويسود الاستقطاع المتخصص ، فى الفاجات المتحدة مع جينوم البكتريا ، وعند حدوث الدورة التحللية ، تنفصل هذه الفاجات وقد تحمل معها بعض جينات البكتريا القريبة من موضع إتصالها ، وتتبادل هذه الجينات البكتيرية مع بعض جينات الفاج . وهذه الفاجات عند دخولها خلايا بكتيرية جديدة ، واتحادها مع جينوم هذه الخلايا ، فإن الفاجات تنقل معها الجينات المحمولة عليها .

ويحدث هذا النوع من الاستقطاع فى فاجات مثل فاج λ الكولاى ، وكمثال لهذا النوع ، هو انتقال الجينات المسئولة عن تمثيل الجلاكتوز إلى بكتريا *E. coli* ، بواسطة الفاج المعتدل لامبدا λ phage ، [أنظر شكل ٨ (٢) - ٧] .

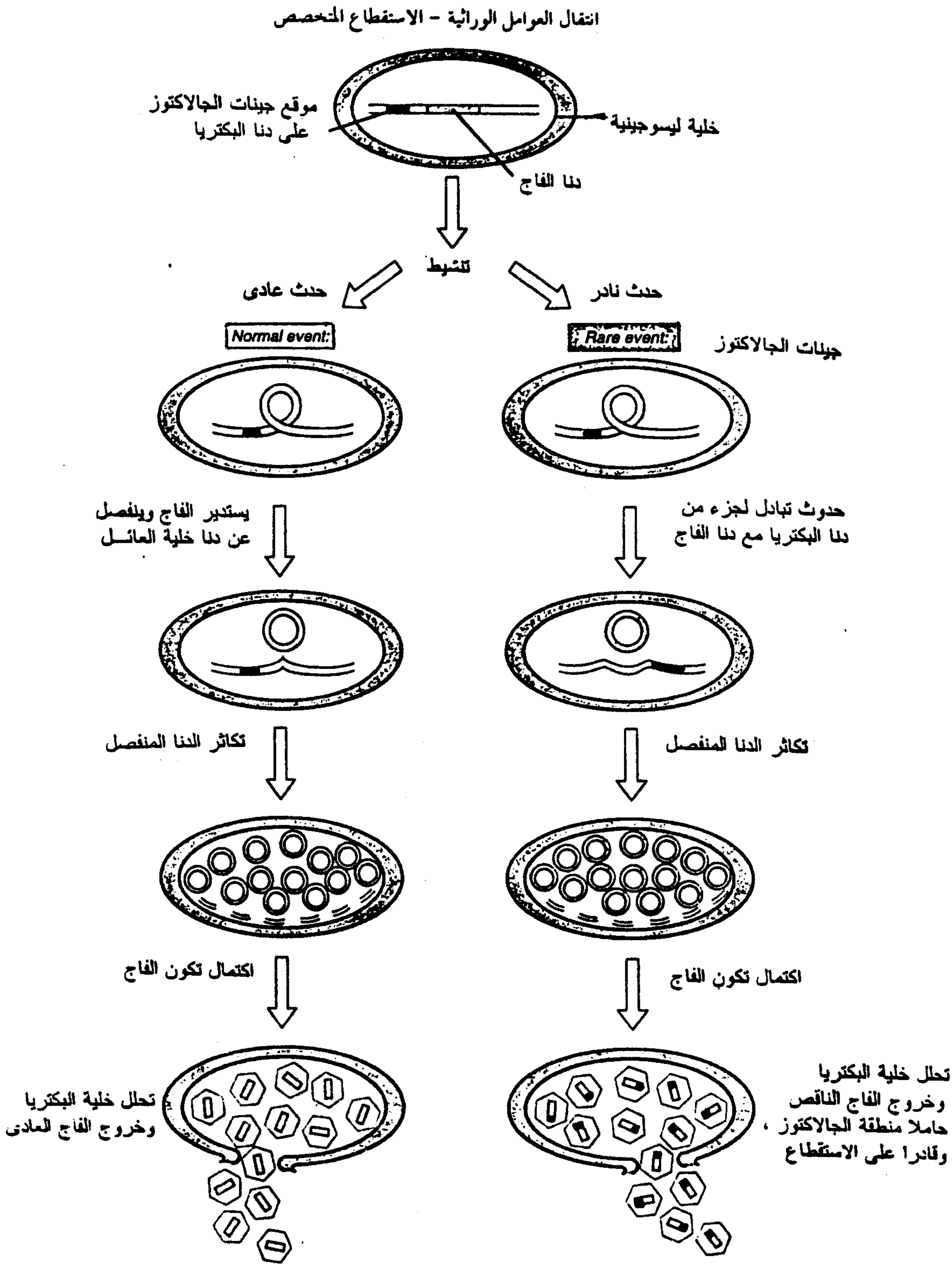
وعندما تصبح الخلية ليسوجينية لمثل هذا النوع من الفيروس ، فمعنى هذا أن جينوم الفاج الأولى * ، قد اندمج مع جينوم البكتريا ، ويحدث هذا الاندماج فى الفاج λ ، فى منطقة محددة على كروموسوم بكتريا *E. coli* ، تكون ملاصقة تماماً للمنطقة من الكروموسوم الحاملة للجينات المسئولة عن تمثيل الجلاكتوز .

وعندما يندمج الفاج مع الكروموسوم البكتيرى ، فانه يصبح مستقيماً بدلاً من كونه دائريا ، وبعد اندماجه ودخول البكتريا فى دورة ليسوجينية ، فانه يتكاثر مع الكروموسوم البكتيرى ، فاذا حدث تنشيط Induction للفاج ، فان دنا الفاج ينفصل عادة عن كروموسوم البكتريا كوحدة واحدة ، ولكن يحدث فى بعض الأحوال النادرة أن يتم تبادل بعض جينات الفاج مع بعض جينات البكتريا الحاملة له عند الانفصال ، ونظراً لأن جينات تخليق الجلاكتوز هى الملاصقة لمنطقة اندماج الفاج ، فإن التبادل يتم مع بعض جينات الجلاكتوز ، ويطلق على هذا الفاج الناقص اسم λ dg (Lambda defective galactose phage) ، وهذا الفاج الناقص لايمكنه بالطبع إحداث الدورة التحللية ، ولكنه قادر على حمل الجينات البكتيرية المحمولة عليه الى سلالة مستقبلة . ولما كانت عملية تكون فاجات λ dg نادرة الحدوث ، فان الفاجات الناتجة من تحلل خلايا السلالة المانحة ، تحتوى على قليل من λ dg بين كثير من حبيبات الفاج العادى المعتدل ، فإذا كانت المزرعة المانحة Gal^+ ، وأخذنا ناتج التحلل وعاملنا به مزرعة *E. coli* gal^- ، فان بعض الخلايا تصبح ليسوجينية مزدوجة ، حيث يوجد بداخلها فاج عادى وفاج λ dg ، فاذا أحدثنا تنشيط للفاج فى هذه الخلايا ، فان ناتج التحلل Lysate ، يكون محتوياً على عدد متساو من الفاج العادى والفاج λdg ، لهذا فان الفاج اذا مااستخدم ، فإنه يعطى معدل استقطاع عال لمنطقة جينات الجالاكتوز .

وشكل [٨ (٢)-١٠] يوضح الاستقطاع المتخصص فى بكتريا *E. coli* .

---

* راجع طبيعة الفاج الأولى ، ص ٥٩٦ .



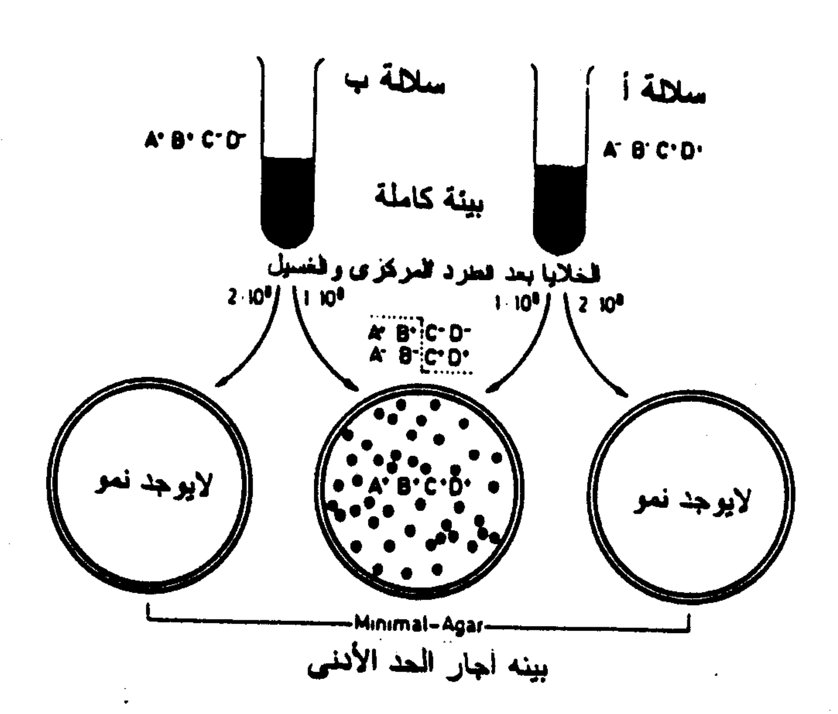
شكل ٨ (٢) – ١٠ : يوضح طريقة حدوث الاستقطاع المتخصص فى بكتريا *E coli* .

ثالثاً : التزاوج وانتقال الكروموسوم

Conjugation and chromosomal mobilization

التزاوج بين الخلايا البكتيرية

أول من أثبت إنتقال المادة الوراثية بين الخلايا البكتيرية عـــن طريـــق الـــتزاوج ، أى بالتلامس المباشر بين خليتين Cell to cell contact ، همـــا Lederberg & Tatum عـــام ١٩٤٦ ، وكان ذلك فتحا فى عالم الميكروبيولوجى . وقد تم لهذين العالمين إثبات حدوث عمليـــة التزاوج بالتجربة الموضحة بشكل مبسط بالشكل [٨ (٢) - ١١] .



شكل ٨ (٢) - ١١ : إثبات تزاوج بين خلايا سلالتين من بكتريا *E. coli* D_{12}

سلالة أ : تحتاج الى الحامضين الأمينيين B, A ، ولكنها قادرة على تخليق الحامضين الأمينيين D,C أى أنها سلالة ذات طراز جينى ($A^-B^-C^+D^+$) .

سلالة ب: عكس السلالة أ السابقة ، أى أنها ذات طراز جينى ($A^+B^+C^-D^-$)

بعد خلط السلالة أ مع السلالة ب ، وإعطاء السلالتين فرصة التزاوج تحت ظروف مناسبة ، ثم تنمية السلالات الخليطة فى بيئة الحد الأدنى غير المحتوية على أحمـــاض A . B,C,D ، فانه بالفحص وجد أن بعض الخلايا نمت (بمعدل ١ × ١٠^-٦ من خلايا المزرعـــة الخليطـــة) وكونت مستعمراتا ، وهى الخلايا التى تزاوجت وانتقلت إليها صفـــات الآبـــاء ، وأصبحـــت سلالات أولية التغذية Prototroph ، ذات تركيب جينى $A^+B^+C^+D^+$ ، أى أنها أصبحـــت قادرة على تخليق الأحماض الأمينية الأربعة A,B,C & D اللازمة لنموها .

ويجب أن نلاحظ أن التزاوج فى البكتريا ، يختلف جذريا فى مفهومه عن التزاوج الجنسى الذى يحدث بين الكائنات الأرقى ، ففى البكتريا فإن التزاوج ليس عملية تكاثر Reproductive process تحدث بانتظام فى كل جيل ، ولايتبع التزاوج فى البكتريا النظام الميوزى ، لأن خلايا البكتريا أحادية المجموعة الكروموسومية (Haploid, 1N) ، كما لايتضمن تزاوج بين أمشاج ، بل يتضمن التزاوج فى البكتريا ، تلامسا بين الخلايا ، ثم انتقال جزء من مادة الدنا ، من الخلية المانحة الى الخلية المستقبلة ، ويتبع ذلك إنفصال الخلايا الملتصقة عن بعضها .

التزاوج فى مجموعات أخرى من البكتريا

بدأ إكتشاف الانتقال الوراثى عن طريق التزاوج بين سلالات بكتريا *E. coli* ، ثم لوحظ بعد ذلك حدوث التزاوج فى أنواع عديدة من البكتريا ، منها

Enterobacteria, *Nocardia*, . *Rhizobium*, *Streptomyces*

ثم لوحظ بعد ذلك حدوث التزاوج أيضا ، فى كثير من الأجناس البكتيرية الأخرى .

عامل الجنس : Sex factor

تنتقل المادة الوراثية بالتزاوج من خلية مانحة Donor الى خلية مستقبلة Recipient ، وتتميز الخلايا المانحة ، وهى البديل للخلايا المذكرة فى الخلايا الأرقى ، بإحتوائها على عامل الجنس Sex factor ، وقد يسمى أيضا بعامل الخصوبة Fertility factor . ويرمز الى هذه الخلايا المانحة ، الحاملة لعامل الجنس بالرمز F^+ ، أما تلك الخالية من عامل الجنس فيرمز لها بالرمز F^- ، وهى الخلايا المستقبلة للمادة الوراثية ، والمعتبرة البديل للخلايا المؤنثة فى الخلايا الأرقى .

عامل الجنس عبارة عن جزء صغير من دنا مزدوج الخيوط ، دائرى ، مقفول ، يحتوى على حوالى ١٠٠ كيلو زوج من القواعد ، ويوجد فى سيتوبلازم الخلية البكتيرية ، خارج الكروموسوم وقد يكون ملتصقا به ، ولايحدث التزاوج إلا بين خلايا F^+ الحاملة لعامل الجنس ، وخلايا F^- غير الحاملة لهذا العامل .

يحمل عامل الجنس الجينات المسئولة عن التزاوج ، كما يحمل جزءا مكونا من حوالى ٤٠ جين هو الذى يُشفِّر لتخليق شعيرات الجنس Sex pili, F pili وينظم عملها ، كما يعمل بلازميد الجنس على المساعدة فى إنتقال الكروموسومات ، مما يجعل مادة الكروموسوم قادرة على الانتقال أثناء تلاصق الخلايا .

وعندما يتحد بلازميد الجنس مع الكروموسوم ، تتكون سلالة تعرف باسم سلالة عالية التكرار الجينى High frequency recombinant strain, Hfr strain ، أى أن بلازميد الجنس فى هذه الخلايا ، يكون قابلا للانتقال الى الخلية المستقبلة بمعدل عالى (أنظر ص ٦٠٨) ، أما إذا لم يتحد بلازميد الجنس مع الكروموسوم ، فانه يسلك سلوك بلازميد التزاوج .

وعندما يدخل بلازميد الجنس الخلية المستقبلة ، فانه يحدث بها ثلاث تغيرات ، هى

١ – إكسابها القدرة على تخليق شعيرات الجنس .
٢ – إكسابها القدرة على تحريك كروموسوم الخلية المانحة .
٣ – إحداث تغيير بسطح الخلية المستقبلة بعد دخوله فيها ، بحيث لاتصبح مستقبلة لمادة وراثية أخرى .

شعيرات (بيلات) الجنس : Sex pili, F pili [١]

يُشفِّر لهذه الشعيرات وينظم عملها ، عامل الجنس الموجود بالخلية F^+ ، وقد يتكون بالخلية شعيرة واحدة أو أكثر من شعيرة جنسية (٢ أو ٣) .

وشعيرات الجنس هى المسئولة عن وصل الخلية F^+ بالخلية F^- ، إذ تقوم الشعيرات بجذب الخليتين إلى بعضهما ، والعمل على تلاصقهما ، وتكوين قنطرة عبور يمر خلالها الدنا من الخلية المانحة إلى الخلية المستقبلة ، وعقب التزاوج تنفصل الشعيرة من الخلية F^- ، وتنكمش ناحية الخلية F^+ .

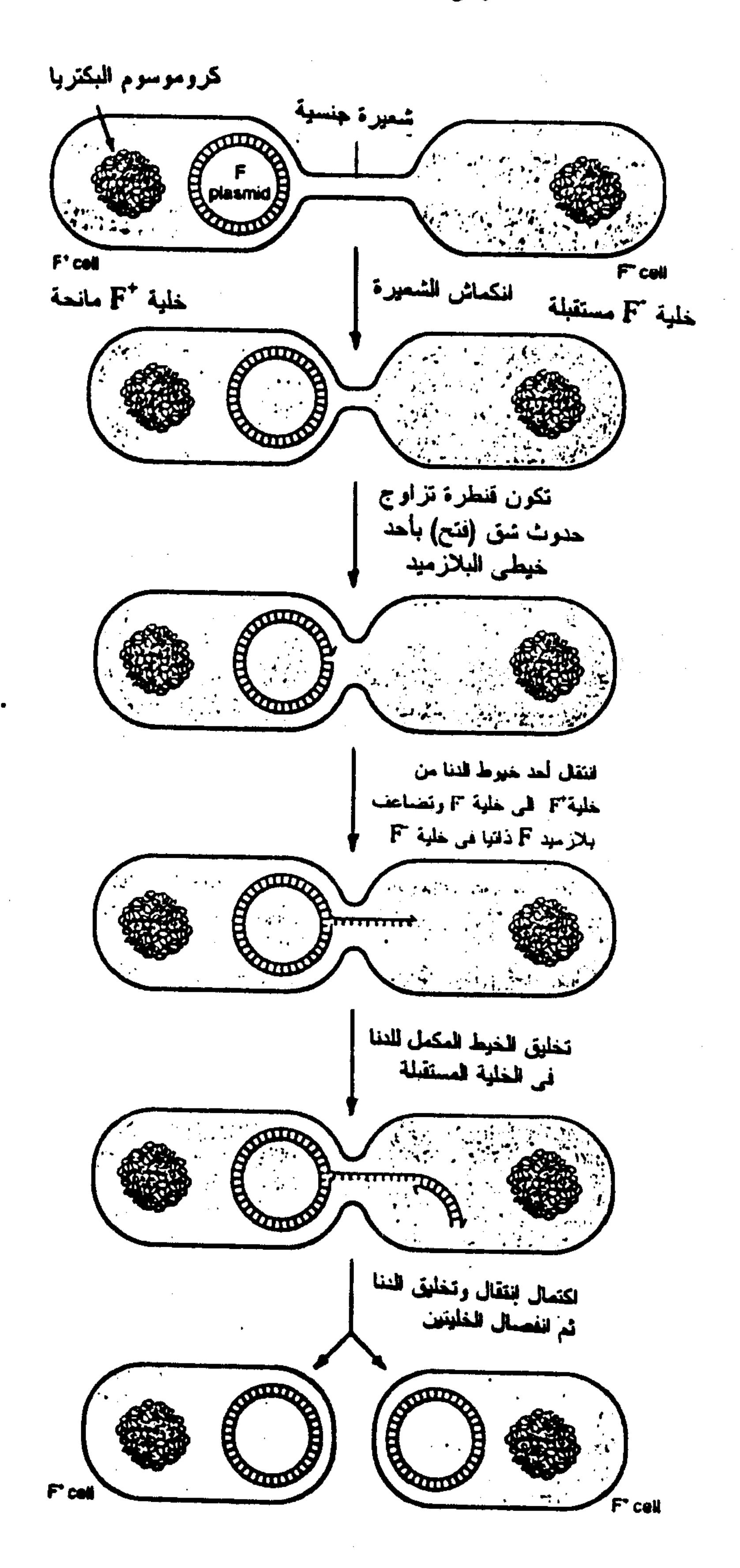
طريقة إنتقال الدنا أثناء التزاوج

المادة الوراثية المنقولة خلال التزاوج بين الخلايا البكتيرية ، قد تكون بلازميد ، أو جزء من كروموسوم ساعد على نقله بلازميد .
وتحت الظروف العادية ، فإن معدل التجمع الوراثى بطريقة التزاوج ، يتم بمعدل منخفض ، هو حوالى ١ × ١٠^-٦ خلية ، ويمكن تفسير طريقة إنتقال الدنا أثناء التزاوج بميكانيكية التضاعف Replication للمادة الوراثية ، التى تتم بنظام الحلقة الدوارة [٢] Rolling circle mode ، فأثناء إنتقال أحد فرعى السلسلة المزدوجة للدنا ، من الخلية المانحة للخلية المستقبلة ، يتكون فرع جديد ، يمتد ويتكامل داخل الخلية المستقبلة [شكل ٨ (٢) – ١٢] .
إن عملية إنتقال البلازميدات الى الخلايا المستقبلة عملية تتم بكفاءة عالية ، وكل خلية تتزاوج تكتسب البلازميد ، فإذا ماكانت جينات البلازميد المنتقل بعد التزاوج يمكن التعبير عنها فى الخلية المستقبلة ، فإن هذه الخلية المستقبلة تتحول الى خلية مانحة ، وبالتالى يمكنها أن تقوم هى ، بنقل بلازميداتها الى خلية أخرى مستقبلة ، وبذلك يتم الانتقال للبلازميدات بين الخلايا البكتيرية بطريقة تشبه العدوى . وهذه الظاهرة لها أهميتها ، حيث أن الانتشار السريع لبلازميد المقاومة بين الخلايا البكتيرية ، يسبب مشاكل كثيرة فى العلاج بالمضادات أو بالعقاقير .

---

(١) راجع الشعيرات – الباب الخامس ، الفصل الثان .

(٢) راجع طرق تضاعف جزىء الدنا بالباب الخامس ، الفصل الثالث .



شكل ٨ (٢) - ١٢ : انتقال دنا البلازميد بالتزاوج بنظام الحلقة الدوارة Rolling circle mode .

تتبع التزاوج

بعد حدوث التزاوج ، فإن الاتحادات الوراثية التى تكونت يمكن تتبعها ، وذلك بزراعة خليط الخلايا على بيئة تسمح بنمو الخلايا التى حدثت فيها الاتحادات الوراثية فقط ، والمحتوية على الطراز الجينى المطلوب .

فعلى سبيل المثال ، لو حدث تزاوج بين سلالة Hfr حساسة للاستربتومايسين (Str^S) ، وفى نفس الوقت لاتحتاج (Prototrophic) ثريونين وليوسين ($Thr^+ Leu^+$) ولها القدرة على تحليل اللاكتوز (Lac^+) ، مع سلالة مستقبلة ، مقاومة للإستربومايسين (Str^R) وفى نفس الوقت تحتاج (Auxotrophic) كل من الثريونين والليوسين ($thr^- leu^-$) وغير قادرة على تحليل اللاكتوز (lac^-) ، فإنه بعد التزاوج ، يمكن أن نتتبع ماتم من اتحادات وراثية بين الخلايا بالتنمية على بيئة إنتقائية خالية من الحامضين الأمينين ثريونين وليوسين ، وتحتوى على استربتومايسين ، حيث أن الخلايا المستقبلة مقاومة لهذا المضاد ، والخلايا التى تنمو لابد أن تكون قد اكتسبت صفة القدرة على تكوين الحامضين الأمينين ($Thr^+ Leu^+$) وفى نفس الوقت فإن وجود اللاكتوز (مع دليل) يبين الخلايا التى أكتسبت صفة (Lac^+) .

وبالمثل ، فإنه يمكن إستخدام بيئات إنتقائية مختلفة ، طبقا للطرز الجينى الناتج عن الإتحادات الوراثية المطلوب عزلها ، ويمكن تقدير معدل الإتحادات بدراسة عدد المستعمرات المتكونة .

سلوك وصفات السلالات عالية التكرار للإتحادات الجينية

High frequency recombinant, Hfr, strains

عندما يتحد بلازميد الجنس مع الكروموسوم ، فإنه يصبح قابلا للانتقال بمعدل عالى ، وتسمى السلالة فى هذه الحالة ، بسلالة عالية التكرار Hfr ، وفى السلالة Hfr يزيد معدل الإتحاد الجينى ألف مرة عن معدل الاتحاد فى حالة خلايا F^+ العادية ، ويوجد على الكروموسوم مواقع معينة لهذا الإتحاد تسمى مواقع تتابع الغرز Insertion sequence (IS) . وعند التزاوج يتم فتح الكروموسوم الدائرى بعمل كسر (Nick) عند نقطة أصل (بداية) الإنتقال Origin of transfer (ori^T) ، وتدخل جينات الكروموسوم بالتوالى من تلك الفتحة ، مبتدئة من نقطة ثابتة لكل سلالة Hfr .

وحيث أنه يوجد عدة نقاط لإندماج بلازميد الجنس بالكروموسوم ، فإننا نتوقع وجود سلالات مختلفة من Hfr ، ويتم فى كل منها غرز الجينات بالكروموسوم ، بترتيب معين ، ويلاحظ أنه بعد التزاوج ، فان سلالة الـ Hfr المانحة تبقى على حالها أى Hfr ، حيث أنها تحتفظ بنسخة كاملة من الجينات المنقولة من خلال نظام الحلقة الدوارة Rolling circle mode .

وترتبط بلازميدات الجنس بالكروموسوم ، بحيث يكون نقطة أصل (بداية) الانتقال فى إتجاه معين ، وفى حالة أخرى ترتبط فى الإتجاه العكسى ، وبالطبع فإن ذلك يؤثر على جينات الكروموسوم أيها يدخل أولا الى الخلية المستقبلة ، وباستخدام سلالات Hfr مختلفة يمكن متابعة ترتيب العديد من الجينات الواقعة على الكروموسوم ، وقد استخدمت هذه الطريقة بكثرة فى بكتريا *E. coli* .

وأثناء التزاوج ، يتم نقل جزء فقط من الكروموسوم ، وتتكون الخلايا الناتجة عن التزاوج باندماج هذا الجزء المنقول بالخلية المستقبلة ، وبرغم أن سلالات Hfr تنقل جينات الكروموسوم بمعدل عال ، إلا أنها لاتحول سلالات F^- ، الى سلالات F^+ أو الى Hfr .

إنتقال جينات الكروموسوم الى بلازميد الجنس

Transfer of chromosomal genes to F plasmid

عندما ينفصل بلازميد الجنس من سلالة Hfr ، فإنه فى بعض الأحوال يأخذ معه بعض جينات الكروموسوم ، ويسمى البلازميد فى هذه الحالة (F prime, F') . ومن الطبيعى فإن الجينات المتحدة مع البلازميد سوف يتم نقلها بمعدل عال إلى الخلايا المستقبلة ، وتمثل الجينات المتحدة مع البلازميد مجموعة محددة فى كل حالة ، ويتم الانتقال بميكانيكية تشابه مايحدث فى حالة الإستقطاع المتخصص* Specialized transduction .

التزاوج المتقطع : Interrupted mating

لمتابعة ناتج الاتحادات الجنسية بعد التزاوج ؛ يستخدم عادة سلالة مستقبلة مقاومة للمضادات الحيوية ، ولها احتياجات غذائية خارجية لبعض عوامل النمو المُحدَّدة ، وفى نفس الوقت تكون الخلايا المانحة حساسة للمضاد الحيوى ، وليس لها احتياجات غذائية لعوامل النمو المُحدَّدة ، وباستخدام بيئة آجار ملائمة يمكن الحصول فقط على الخلايا الناتجة من الاتحادات الجنسية .

ويمكن متابعة الغرز المُتتابع لجينات الكروموسوم من سلالة Hfr ، إلى خلايا مستقبلة، بتقنية التزاوج المتقطع Interrupted mating . فمن المعروف أن الخلايا المتزاوجة يكون الالتصاق بينهما ضعيفا ، وبالتالى يمكن فصلهما عن بعضهما بالرج ، فإذا ماتم رج الخلايا المتزاوجة على فترات مختلفة ، وتم تقدير الإتحادات الوراثية ، فإننا سنلاحظ أنه كلما طالت المدة فيما بين بدء التزاوج والرج ، كلما زادت الاتحادات الوراثية ، وفى نفس الوقت سنلاحظ أن انتقال الجينات يتم بترتيب ثابت لكل سلالة Hfr ، فالجينات الأقرب الى نقطة أصل الإنتقال تدخل أولا ، وبالتالى تظهر بنسبة أعلى فى الاتحادات الوراثية عن الجينات التى تدخل متأخرة . والتجارب التى من هذا النوع ، تمدنا بتقنيات مناسبة لدراسة تتابع الجينات على المادة الوراثية فى البكتريا ، مما يساعد فى عمل الخريطة الجينية Genetic mapping .

---

* أنظر ص ٦٠٢

الخريطة الجينية فى البكتريا : Bacterial gene map

يتم إستخدام أنواع الاتحادات الوراثيــة الثلاثــة ، وهــى التحــول Transformation والاستقطاع Transduction ، والتزاوج Conjugation ، فى تحديد مواقع الجينات المختلفة على كروموسوم البكتريا ، فمثلا فانه باستخدام سلالات بكتيرية مختلفة عالية التكــرار Hfr ، فانــه يمكن عمل خريطة كاملة (تقريبا) للجينات الموجودة فى البكتريا . ومع هذا ، فإن هــذا النظــام التزاوجى لايمكننا من ترتيب الجينات المرتبطة مــع بعضــها علــى الكروموســوم ، ويعتــبر الإستقطاع العام Generalized transduction تقنية أكثر دقة فى تحديد مواقع الجينــات علــى الكروموسوم ، ففى *E. coli* يستطيع الفاج P1 حمل جزء من الدنا يعادل مسافة حوالى دقيقتيــن على الخريطــة الجينية ، وبالتالى يعتبر مفيدا فى عمل الخريطة الجينية ، كما يســتخدم أيضــا الاستقطاع المتخصص Specialized transduction فى ترتيب الجينات ، ولقد أمكن من خــلال استخدام هذه التقنيات ، تحديد موقع ١٤٠٣ جين على الخريطة الجينية لبكتريا *E. coli* .

ولقد تبين أن الجينات التى تحكم مسارا أيضيــا واحــدا ، عــادة مــاتكون متجمعــة Clustered أو متقاربة الموقع ، فى الخريطة الجينية للكائنات بدائية النــواة ، وأن جميــع هــذه الجينات عادة مايتم تنظيم تنشيطها ، بحثها Induction أوكبحها Repression ، فى وقت واحد .

ومن المعروف أن حجم كروموسوم *E. coli* يصل إلى ٤٧٠٠ كيلو من أزواج القواعــد Kilobase pairs ، وهذا يعتبر أكبر قليلا من المتوسط العام لحجم الكروموسوم البكتيرى .

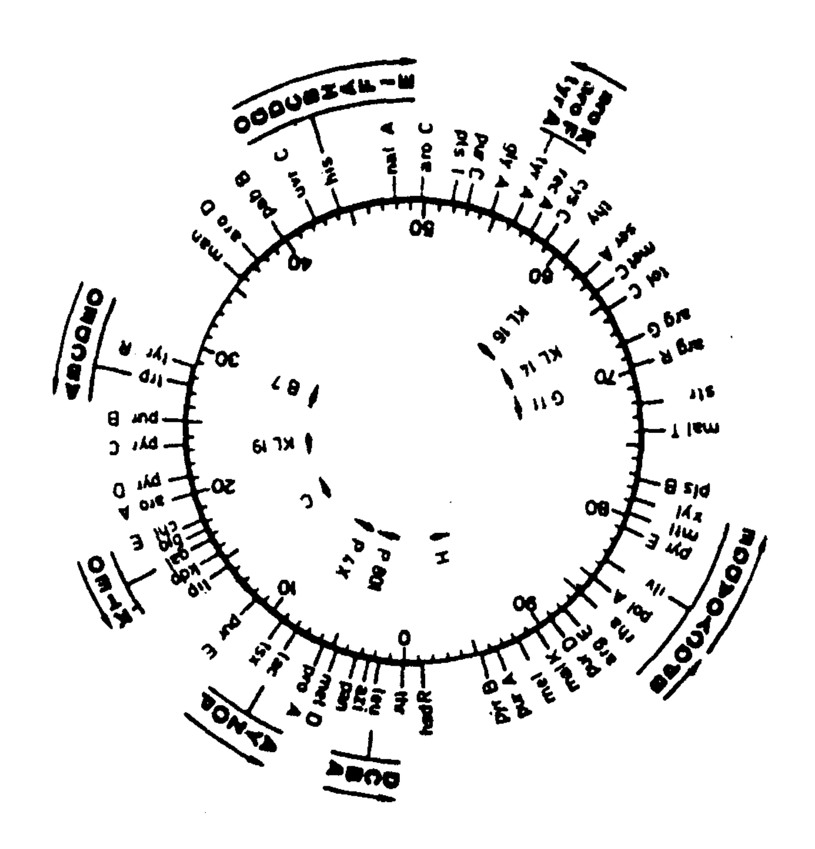
ولقد لوحظ أن تتابع الجينات على كروموسوم بكتريا السالمونيللا *Salmonella* يشــبه لحد كبير ذلك التتابع الموجود فى بكتريا *E. coli* ، وهما نوعين من البكتريا بينهما نــوع كبــير من التقارب ، بينما يكون الترتيب مختلفا فى الأنواع البعيدة مثل الــ *Bacillus* . ومع هذا فقــد لوحظ تشابها كبيرا فى ترتيب الجينات الموجودة فى طرفى جزىء الدنا بين العديد من أنــواع البكتريا .

الخريطة الجينية لبكتريا *E. coli*

توضح الخريطة الجينية ترتيب الجينات على الكروموســوم البكتــيرى ، والمســافات النسبية التى بين الجينات وبعضها ، وقد تم عمل خرائط جينية لعدد من البكتريا منها

Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Streptomyces coelicolor ...

ويبين شكل [٨ (٢)- ١٣] ، خريطة جينية مبسطة لبكتريا *E. coli* ، ويلاحظ أنه كلمــا بعد الجين عن نقطة بداية الانتقال Origin of transfer ، كلما تأخر موعد إنتقاله إلــى الخليــة المستقبلة ، ويستغرق الانتقال الكامل لكروموسوم الكولاى من الخلية المانحة إلى الخلية المستقبلة حوالى مائة دقيقة ، ومعدل الانتقال للجينات يبقى ثابتا طوال الفترة الكلية للانتقال ، وبالتالى فــإن وقت دخول الجين بالخلية المستقبلة ، يتوقف على المســافات التــى بيــن الجينــات الموجــودة بالكروموسوم البكتيرى .



شكل ٨ (٢)-١٣ : خريطة جينية مبسطة لكروموسوم بكتريا *E. coli* .

الجينات :

azi : مقاومة الأزيد

bio : الاحتياج للبيوتين ،

gal : استخدام الجالاكتوز

his : الاحتياج للهستدين ، والنزيمات تخليق الهستدين

ilv : الاحتياج للأيسوليوسين والفالين

lac : أوبرون اللاكتوز حاملا الجينات التالية :

P : بروموتور

O : أوبريتور

Z : بيتا جالاكتوسايديز

Y : جالاكتوسيد برمييز

A : ثيوجالاكتوسيد ترانس اسيتايليز

pro A : الاحتياج للبرولين

rec A : القدرة على إصلاح أخطاء التجمع الوراثى وأضرار الإشعاع

thr : الاحتياج للثريونين .

trp : الاحتياج للتربتوفان

Ref. Schlegel H. G. (1995). General Microbiology. Cambridge Univ. Press, New York.

يوضح الشكل ٨ (٢) - ١٣

* ترتيب الجينات على الكروموسوم .
* المسافات النسبية التى بين الجينات .

والمسافات مقدرة بالدقائق ، التى يصل فيها الجين من الخلية المانحة إلى الخلية المستقبلة خلال التزاوج ، وذلك فى بيئة مرق مغذى عند درجة ٣٧°م .

* توضح الأسهم التى بداخل الدائرة ، التتابع الذى تصل فيه الجينات الى الخلية المستقبلة خلال فترة التزاوج ، وذلك من سلالات Hfr مختلفة .
* إتجاه حركة الكروموسوم عكس المبين بالأسهم الداخلية .
* توضح الأسهم التى بخارج الدائرة ، إتجاه قراءة كل جين من الجينات المكونة للأوبرون ، خلال عملية الاستنساخ ، مثلا فى حالة أوبرون اللاك lac operon ، تكون القراءة P ثم O ثم Z ثم Y ثم A .

الناقل الجينى وخريطة الجينوم البشرى [١]

بذلت فى السنوات الماضية ، جهودا حثيثة لعمل خريطة جينية ، وعزل ومعرفة تتابع جينات ، جينوم بشرى أحادى الكروموسومات ، وأطلق على هذا المشروع البحثى الضخم الذى تكلف عدة ملايين من الدولارات ، اسم مشروع الجينوم البشرى The human genome project .

وفى هذا العمل ، يستخدم ناقل جينى مثل الكروموسومات الأصطناعية للخميرة [٢] YACs ، قادر على حمل أجزاء كبيرة جدا من الدنا ، بحيث يكون حجم المكتبة الجينية معقولا .

وبعد تجارب عديدة استمرت عدة سنوات ، فقد تم بنجاح ، أعلن عنه عام ٢٠٠١ ، استكمال عمل الجينوم البشرى (الطاقم الوراثى البشرى ، أى مجمل المورثات الموجودة فى الخلية البشرية) ، الذى يحمل فى مجموعه كل الجينات المختلفة الموجودة بالبشر ، والتى يقدر عددها فى خلية الفرد الواحد ، بما يتراوح مابين ٥٠ ألف الى ١٠٠ ألف جين .

وبالوصول الى خريطة التتابع الكامل للجينوم الكامل ، سيتمكن القائمون بالعمل فى هذه المجالات العلمية ، من تطبيق تقنيات مبهرة فى مجالات الهندسة الوراثية ، لعل من أهمها إصطلاح الخلايا المعطوبة بخلايا الانسان ، والتغلب على كثير من الأمراض .

---

[١] دانييل كيفلس وليروى هود - ترجمة أحمد مستجير (٢٠٠٢)

الجينوم البشرى - القضايا العلمية والاجتماعية - الهيئة المصرية العامة للكتاب ، القاهرة .

[٢] أنظر الباب الثامن - الفصل الثالث - الناقلات الجينية ، والكروموسومات الاصطناعية للخميرة ، ص ٦٢٠ ومايليها.

﴿الباب الثامن – الفصل الثالث﴾

الهندسة الوراثية والتكنولوجيا الحيوية

المحتويـــات

الموضوع **الصفحة**

(الباب الثامن – الفصل الثالث)

الهندسة الوراثية والتكنولوجيا الحيوية

Genetic Engineering and Biotechnology

مقدمة

يدل مفهوم الهندسة الوراثية ، على تطوير يحدث بالتركيب الجينى للكائن ، وذلك من خلال وسائل بيوكيميائية ، وتعرف هذه الوسائل البيوكيميائية باسم التقنيات الخاصة بالاتحاد الجينى فى حامض الدنا ، Recombinant DNA technology ، وبهذه الوسائل البيوكيميائية ، يمكن إدخال جينات جديدة فى حامض دنا الخلية ، مما يؤدى الى حدوث تعديل جينى فى تركيب الحامض النووى ، وإعادة تكوينه الوراثى ، ويستخدم فى هذه الطرق البلازميدات ، وبعض البكتريوفاجات ، والكروموسومات الاصطناعية للخميرة .

وقد كانت البدايات منذ سبعينات القرن الماضى ، حيث تضمن ذلك عزل المادة الوراثية ، وتنقيتها ، وتعريفها ، وغرزها فى عائل جديد ، وعزل مستعمرة من الخلايا تحمل الجينات الجديدة المرغوبة ، ثم توسعت التقنيات الخاصة بالإتحاد الجينى ، وأصبحت تستخدم الآن فى مجالات عديدة ، منها مايعرف بالتكنولوجيا الحيوية [1] Biotechnology .

عزل الجين

يعتبر عزل الجين والحصول على أنسال من الجين [2] Gene cloning ، أو مايعرف بالكلونة ، من أهم النقاط التى أدت الى تقدم علم الهندسة الوراثية ، إذ أن الحصول على الدنا النقى ، يسمح بدراسة خواصه ، والتعامل مع الجين ، وأيضاً مع ناتج التعبير الجينى ، وبذلك يمكننا تقدير تتابع النيوكليوتيدات ، وبالتالى يمكن معرفة تتابع الأحماض الأمينية الموجودة فى البروتين الناتج عن الجين .

وبالحصول على الجين من كائن وإدخاله فى كائن آخر ، آمن ، فانه يمكننا الحصول على نواتج ذات قيمة كبيرة ، كما أن الجين النقى المعزول يمكن استخدامه فى عمل الاتحادات

---

[1] تكنولوجيا حيوية ، تقنية حيوية Biotchnology ، يقصد بهذا المصطلح مجموعة العمليات الصناعية ، التى تقوم على استخدام الكائنات الدقيقة أو الكبيرة ، لانتاج مواد حيوية ، بما فى ذلك استخدام البكتريا المعاد تكوينها وراثياً ، فيما يعرف بالهندسة الوراثية .

[2] إكثار جينى ، كلونة Gene cloning

تكوين نُسَخ جينية متماثلة ، من الكائنات أو الخلايا أو الأنوية أو الجينات أو الحامض النووى ، وذلك بطرق لاجنسية بتقنيات الهندسة الوراثية .

الوراثية فى المعمل خارج الكائن الحى *In vitro* ، والحصول على الدنا معدل وراثيا Recombinant DNA .

وعزل جين معين من داخل جينوم ليس عملاً سهلاً ، فحجم الجين يصل الى ١-٢ كيلو من أزواج القواعد ، وهذا يمثل حوالى ٠,٥% من حجم جينوم * *E, coli* على سبيل المثال . واذا علمنا أن جينوم الانسان يصل حجمه الى ١٠٠٠ ضعف حجم جينوم بكتريا *E. coli* ، فان هذا يبين لنا كم هو صعب الحصول على جين واحد من هذا الحجم الكبير من المادة الوراثية ، ومع هذا فإن دنا الفاج λ (Lambda) مكون من ٥٠ كيلو زوج من القواعد فقط ، وحجم جينوم بعض البلازميدات لايزيد عن ٥ كيلو زوج من القواعد ، وبهذا فان الجين الواحد يمثل ٢٠-٤٠% من حجم مثل هذا الجينوم .

والخطة الأساسية فى عزل الجين واكثاره ، هى نقل هذا الجين الى مادة وراثية ذات جينوم صغير ، ومن حسن الحظ فان معلوماتنا عن كيمياء الدنا وعلم الانزيمات ، أصبحت تسمح لنا بكسر وإعادة وصل جزيئات الدنا معملياً ، حيث أن الانزيمات المُحدِّدة (أى انزيمات القطع) Restriction enzymes ، وانزيمات الربط DNA ligases ، وتكوين جزىء الدنا صناعياً ، كلها تعتبر وسائل هامة فى التقنيات الخاصة بالاتحادات الوراثية المعملية .

وتعتبر الخطوات التالية ، أساسية فى الحصول على الجين

١ - عزل الدنا وتقطيعه ، سواء أكان دنا جينوم ، أو دنا مصنع ، أو دنا تم الحصول عليه بالأستنساخ العكسى للرنا .
وفى حالة الجينوم ، فأنه يتم تقطيع الدنا باستخدام انزيمات القطع Restriction enzymes.

٢ - ربط أجزاء الدنا المقطوعة ، داخل ناقل جينى Cloning vector ، باستخدام إنزيمات الربط Ligases ، والناقل الجينى لابد أن يكون صغير الحجم ويتكاثر منفصلاً عن الكروموسوم.
ويتم إعداد الناقل الجينى بحيث يسمح باتحاد الدنا الغريب معه فى موقع محدد Restricted site ، بطريقة لاتؤثر على تكاثر الناقل نفسه .

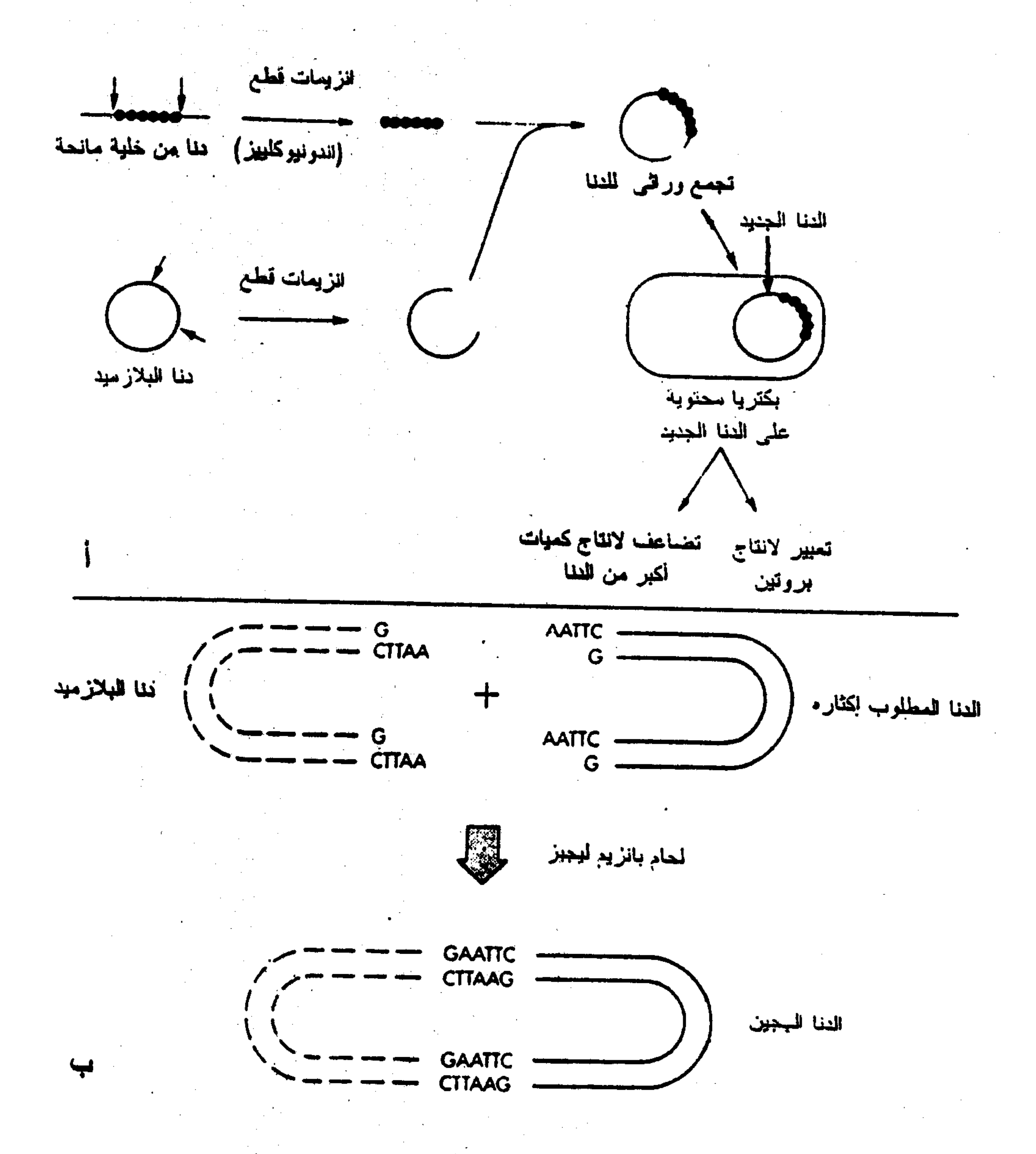
٣ - إدخال هذا الناقل فى عائل بالتحول الوراثى Transformation أو باستخدام الفاج Transduction . وهذه العملية تُكوِّن خليطاً ، يتضمن الاتحاد الجينى المطلوب Desired clone واتحادات جينية أخرى ، ويسمى هذا الخليط الناتج بالمكتبة الجينية Gene library إذ أن هذا الخليط يحفظ تحت ظروف مناسبة ، لعزل العديد من الاتحادات الجينية ، التى تستخدم فى الأغراض المختلفة .

٤ - التعرف على الاتحاد الجينى المطلوب فى الخلايا العائلة المحتوية عليه ، وهذا يمثل أصعب المهام .

٥ - انتاج عدد كبير من الخلايا أو الفاجات المحتوية على الجين .
وشكل [٨ (٣) - ١] يوضح أهم خطوات انتاج بكتريا معدلة وراثيا .

---

* الوزن الجزيئى لجزىء الدنا فى بكتريا *E. coli* حوالى ٣ × ١٠⁹ دالتون ، ويحتوى على ٥ مليون زوج من القواعد، تمثل حوالى ٥ آلاف جين .



شكل ٨ (٣) - ١ :
أ - الخطوات الرئيسية لانتاج بكتريا معدلة وراثيا .
ب - تكوين دنا هجين من دنا خلية مانحة ، ودنا بلازميد مقطوع بانزيمات القطع .

إنزيمات القطع : Restriction enzymes

إن من أهم خطوات الحصول على الجين ، وبالتالى نجاح تقنية الهندسة الوراثية ، هـى تقطيع الدنا تقطيعاً سليماً ، فى أماكن محددة تسمح بالحصول على أجزاء فعالـة منـه ، وليـس تقطيعاً عشوائياً ، وهنا تأتى أهمية انزيمات القطع .

وإنزيمات القطع ، أو الانزيمات المُحدِّدة Restriction enzymes ، هى إنزيمات قادرة على قطع جزىء الدنا فى أماكن محدَّدة ، وبذلك ينتج جزءاً من الدنا خاص بإنتاج انزيم أو ببتيـد معين ، ولكل إنزيم من الانزيمات المُحدِّدة ، الجين الخاص الذى يرمز له .

ومن أهم أقسام إنزيمات القطع عالية التخصص ، النيوكليـيزات الداخليـة (الاندونيوكليـيزات) Restriction endonucleases ، وكل إنزيمات القطع المعروفة حتى الآن ، أمكـن الحصـول عليها من خلايا بدائيات النواة ، وتشتق أسماء إنزيمات القطع ، من أسماء الكائنات العائلة لـها ، لذلك فان أسماء إنزيمات القطع تكتب بحروف مائلة .

وتكون الخلايا إنزيمات القطع لتؤدى بها أغراضها الخاصة ، فمـن المعـروف أن الكائنـات المختلفة كثيراً ماتواجه مشكلة التعامل مع دنا غريب ، الذى كثيراً مايكون فيروسى ، يؤثر علـى أيض الخلية أو قد يقتلها ، ويعتبر إتلاف أو تكسير هذا الدنا الغريب إنزيمياً ، أحد أهم الوسـائل التى تتبع للتعامل معه ، للحفاظ على حياة الخلية أو الكائن . وبحصولنا على إنزيمات القطـع ، فأننا نستفيد بما تتميز به تلك الانزيمات من خواص ، كما نستفيد من استخداماتها الهامـة فـى التقنيات المختلفة .

والانزيمات التى تقوم بتقطيع الدنا الغريب متخصصة فى عملها لحـد كبـير ، حتـى لاتؤثر على دنا الكائن نفسه . ومنها الاندونيوكليزات Endonucleases ، وهذه الإنزيمات تتحـد مع الدنا فى مناطق خاصة ذات تتابع محدد للقواعد ، وأغلب إنزيمـات القطـع لاتميـز فقـط التتابعات التى تتحد معها ، وإنما أيضا تقطع السلاسل المزدوجة فى هذه التتابعات ، وتتميز هـذه التتابعات فى أغلب الأحوال بوجودها فى سمتريه ثنائية Two fold symmetry حـول نقطـة معينة ، فمثلاً أحد إنزيمات القطع فى *E. coli* ويسمى *Eco*RI ، يتعرف على التتابعات الآتية فى جزىء الدنا .

```
                ↓
5` .......... G — A — A ¦ T — T — C  ........ 3`
                        ¦
3` .......... C — T — T ¦ A — A — G  ........ 5`
                                  ↑
```

ويتم القطع عند الأسهم ، ويوضح الخط الرأسى المنقط محور التمـاثل (السـمترية) ، ويلاحظ أن كلاً من سلسلتى الدنا لها نفس التتابع ، أو يتم قراءتها فى إتجاهين متعاكسين (أى لـو تم قراءتهما من `5 ← `3 فى كلا السلسلتين) ، وتسمى هذه التراكيب التى تقرأ طردا أو عكساً، باسم Palindrome .

وكثير من إنزيمات القطع مكون من سلسلتين متماثلتين ، تميز كل منهما التتابعات التى تقطع فى إحدى السلسلتين ، ونظراً لأن أغلب هذه الإنزيمات تقطع كلا السلسلتين فى الدنا ، فـإن إنزيمات الإصلاح لايمكنها إعادة ربطها ثانية .

وقد اتضح أن تتابعات تعرف القواعد لإنزيمات القطع فى الدنا ، تكون مكونة من ٤ ، ٥ ، ٦ أو ٨ أزواج من القواعد ، وعلى هذا فإن احتمال تكرار هذه التتابعات تصل الى واحـد لكـل ٢٥٦ زوج من القواعد ، فى حالة ماتكون التتابعات من أربع أزواج ، وتكون ١ : ٤٩٦ زوج قواعـد

فى حالة التتابعات المكونة من ٦ أزواج ، وتكون ١ : مليون فى حالة تكونـــها مـــن ٨ أزواج ، وذلك إذا ماحسبت على أساس العشوائية .

ولما كانت تتابعات القطع لأغلب إنزيمات القطع تتراوح بين ٤-٦ أزواج من القواعد ، ووجود مثل هذه التتابعات فى الجزىء محدود ، فإنه يمكن تقطيع الحامض النووى ثـــم تفريـــده كهربائيا ، وبالتالى يمكن معرفة طول كل قطعة ، وباستخدام إنزيمات قطـــع مختلفـــة وأيضـــا متداخلة فى تتابعاتها ، فانه يمكن عمل مايسمى بخريطة إنزيمات القطع Restriction enzymes map ، وهذه الخريطة تحدد مواضع التتابعات لمختلف إنزيمات القطع ، كما أنها تســـاعد فـــى عمل الخريطة الجينية.

ولقد أمكن معرفة عدد ضخم من إنزيمات القطع حتى الآن ، وهذه الانزيمات عـــلاوة على أهميتها للخلية ، وعلى أهميتها فى دراسات الدنا ، فإنه يمكن الاستفادة منـــها فـــى قطـــع جزىء الدنا الى قطع عند مواضع محددة ، أى قطع أطراف محددة معروفة ، وتســـتخدم هـــذه القطع فى دراسة تتابعات الدنا .

كما أن إمكانية استخدام انزيمات القطع ، فى قطع جزىء الدنا فى أماكن محددة وإعادة ربط الأجزاء المقطوعة ، بإنزيم DNA ligase ، تعتبر تقنية تستخدم بكثرة فى إكثار الجينـــات Cloning ، وإدخالها فى ناقلات ، لتستخدم فى مختلف استخدامات الهندسة الوراثية .

ونظرا لأهمية إنزيمات القطع ، فإنها تنتج تجاريا ويتم تسويقها ، ولقـــد أصبـــح مـــن الممكن ايجاد إنزيم قطع لأى تتابعات معروفة فى الـــدنا .

وجدول [٨ (٣) -١] يوضح المعلومات الخاصة ببعض إنزيمات القطع .

جدول ٨ (٣) - ١ : بعض إنزيمات القطع ، الاندونيوكلييزات Restriction endonucleases .

البكتريا الموجود بها الانزيم	مسمي الانزيم	تتابعات قواعد التعرف
Escherichia coli RY13	*Eco* RI	5′-G↓-A-A* ⁞ T-T-C-3′ 3′-C-T-T ⁞ A*-A-G↑-5′
Haemophilus haemolyticus	*Hha* I	5′-G-C* ⁞ G↓-C-3′ 3′-C↑-G ⁞ C*-G-5′
Brevibacterium albidum	*Bal* I	5′-T-G-G ↓ C*C-A-3′ 3′-A-C-C* ↑ G-G-T-5′
Haemophilus aegyptius	*Hae* III	5-G-G ↓ C*-C-3′ 3′-C-C* ↑ G-G-5′

- يشير السهم ، الى موقع القطع بواسطة انزيمات القطع .
- تشير النجمة * ، الى القاعدة النتروجينية ذات مجموعة الميثايل Methylated base .
- يشير الخط المنقط الرأسى ، إلى محور التماثل فى تتابع قواعد التعرف .

تعديل الدنا DNA وحمايته من أثر إنزيمات القطع

تستطيع الخلية البكتيرية تعديل الدنا الخاص بها ، مما يجعل التتابعات غير مناسبة لمهاجمتها بإنزيمات القطع التى تكونها الخلية نفسها ، وهذه التعديلات تتضمن اضافة مجاميع ميثايل Methylaltion (m) فى بعض القواعد داخل تتابعات القطع ، مما يوقف قدرة إنزيمات القطع على قطعها ، ولهذا فإن لكل إنزيم قطع يوجد إنزيم تعديل ، ويعمل الاثنان معاً .
وعلى سبيل المثال ، فإن تتابعات القطع بالنسبة لإنزيم *Eco*RII ، هى

C – C – A – G – G　　　　C – C^{m} – A – G – G

يتم تعديلها إنزيمياً إلى

G – G – T – C – C　　　　G – G – T – C$_{m}$ – C

استخدام البلازميدات كناقل جينى : Plasmids as cloning vectors

للبلازميدات عدد من المميزات كناقل جينى ، منها

١- حجمها الصغير ، ولهذا فإن الدنا الخاص بها من السهل عزله والتعامل معه .
٢- الجزىء الخاص بها دائرى وثابت .
٣- لها أصل التضاعف Origin of replication الخاص بها ، بحيث يمكنها أن تتكاثر منفصلة عن الكروموسوم .
٤- وجود عدد من النسخ من البلازميدات داخل الخلية الواحدة .
٥- يمكن أن يوجد فى البلازميد مميزات ، تتخذ كعلامات انتقائية* Selective markers ، مثل المقاومة للمضادات الحيوية ، مما يساعد على متابعة وجود البلازميد ، ومعرفة أثره .

ورغم طبيعة البلازميد التزاوجية ، إلا أن تضاعفه يجب أن يتم ضبطه بحيث يكون متحكماً فيه.

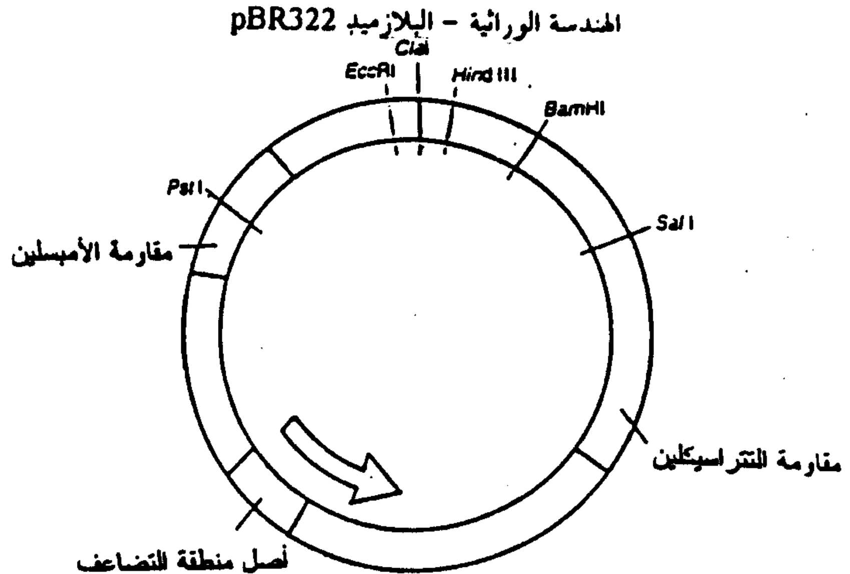
ومن أحسن الأمثلة على البلازميدات التى تستخدم كناقل جينى ، هو بلازميد pBR 322 فى بكتريا *E. coli* ، حيث يتميز بالصفات التالية

١ - حجمه صغير ، فهو يحتوى على ٤٣٦٠ زوج من القواعد فقط .
٢ - ثابت داخل العائل (*E. coli*) ، ويكون عدداً كبيراً من النسخ ، حوالى ٢٠-٣٠ لكل خلية .
٣- يمكن توجيهه لزيادة عدد النسخ لتصل من ١٠٠٠ إلى ٣٠٠٠ نسخة لكل خلية ، وذلك بتثبيط بناء البروتين الخلوى بالكلورامفنيكول .
٤- سهولة عزله فى صورة شديدة الالتفاف Super coiled .
٥- يمكن إدخال كمية مقبولة من الدنا فيه، وإذا ماتجاوزت هذه الكمية ١٠ كيلو زوج قواعد، فان البلازميد يصبح غيرثابت .
٦- تتابع القواعد فيه معروف بالكامل ، وبالتالى فإن مواقع انزيمات القطع به ، محددة المواقع.
٧- له مكان قطع واحد لكل انزيم قطع ، ويقع مكان القطع فى الموقع *Eco*RI ، بين جينات المقاومة للمضادات الحيوية . ووجودنقطة واحدة للقطع لكل انزيم ، تعنى أن استخدام الانزيم يؤدى الى فتح دائرة البلازميد ، دون تقطيعه الى أجزاء .
٨- به نقاط مقاومة للمضادات الحيوية الأمبسلين والتتراسيكلين ، وهذا هام فى الحصول على خلايا العائل المحتوية على البلازميد .
٩- من السهل إدخاله فى العائل بالتحول الوراثى Transformation .

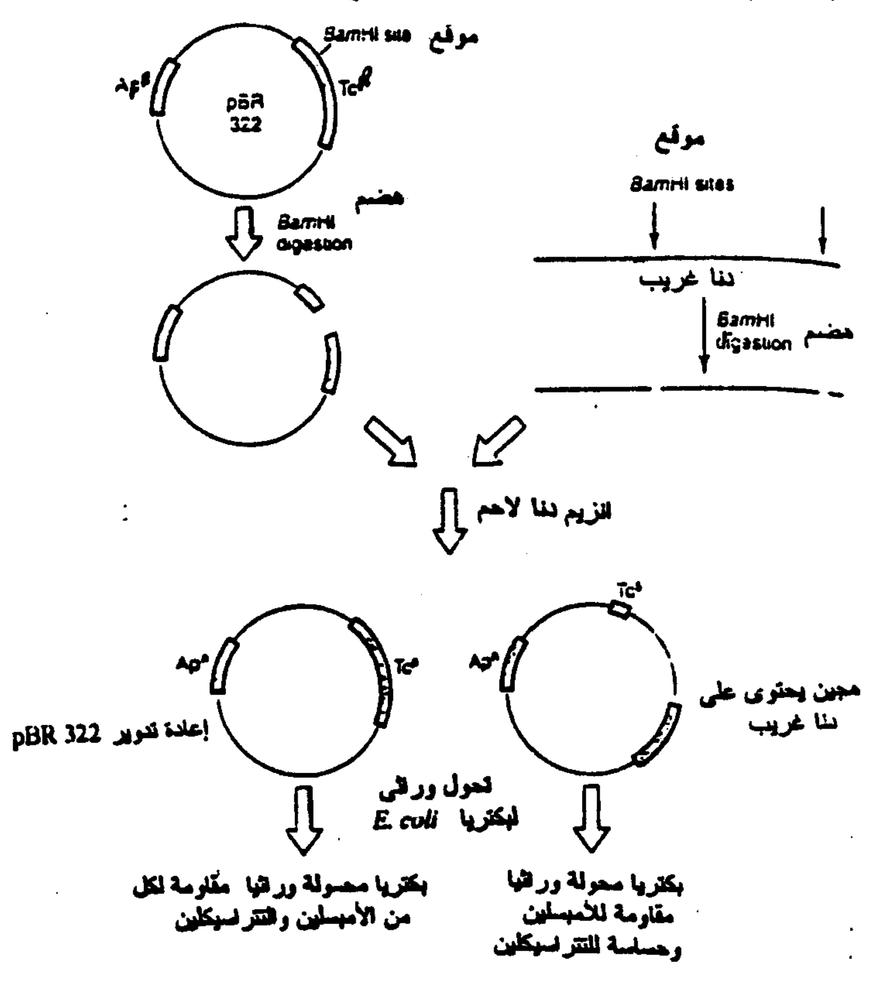
ويوضح الشكل [٨ (٣) - ٢] ، استخدام البلازميد pBR 322 كناقل جينى .

---

* أنظر تذيل ص ٦٢٥ .



تركيب البلازميد pBR322 المستخدم كناقل للاكثار الجينى
ويوضح السهم اتجاه تضاعف الدنا من نقطة البداية
مواقع انزيمات القطع : *Sal* I, *Bam* HI, *Hind* III, *Cla* I, *Eco* R1, *Pst* I



شكل ٨ (٣)-٢ : استخدام البلازميد pBR322 فى حمل واكثار الجين .
ويوضح الشكل كيف أن ادخال دنا غريب، يؤدى الى فقد صفة مقاومة التتراسيكلين ، مما يؤكد دخـــول الدنا الغريب (الجين) .
المواقع الجينية الخاصة بالمقاومة (R) والحساسية (S) للتتراسيكلين والأمبسلين : Tc^R, Tc^s, Ap^R, Ap^s

وفى بلازميد pBR322 ، فان منطقة إنزيم القطع *Bam* HI ، تقع داخل جين المقاومة للتتراسيكلين ، بينما منطقة إنزيم القطع *Pst I* ، تقع داخل جين المقاومة للامبسلين . فاذا مادخلت قطعة من الدنا فى إحدى هاتين المنطقتين ، فان صفة المقاومة للمضاد الحيوى الخاص بها سوف تفقد ، وهذه الظاهرة تسمى التثبيط بالغرز (الادخال) Insertional inactivation .

وهذا الفقد فى القدرة على مقاومة أحد المضادين الحيويين ، يمكن أخذها كدليل على نجاح غرز الدنا الغريب داخل البلازميد . وفى نفس الوقت ، فان جين المقاومة للمضاد الحيوى الآخر ، سوف يساعد فى عزل الخلايا التى اكتسبَت هذه المقاومة ، بادخال البلازميد فيها بالتحول الوراثى .

ويجب أن نعلم أن البلازميد pBR 322 ليس بلازميداً طبيعياً ؛ ولكنه بلازميد اصطناعى تم بناؤه اصطناعيا ، فجين المقاومة للتراسيكلين الموجود فيه ، أخذ من أحد البلازميدات ، ، بينما منطقة أصل التضاعف أخذت من بلازميد أخر ، أما صفة المقاومة للامبسلين فقد تم الحصول عليها من الترانزبوزون * Tn3 .

وفى الوقت الحالى ، ظهرت أجيال من البلازميدات التى تستخدم كناقل جينى ، والتى تم هندستها لتحتوى على صفات أخرى مطلوبة ، مثل وجود منطقة ربط متعددة Polylinker ، لتساعد فى ربط الدنا فيها ، وأيضا يوجد بها عدد من مناطق ربط الجين Multiple cloning sites ، ومنطقة الربط المتعددة مكونة من قطعة صغيرة من الدنا ، تحتوى على عديد من مواقع عمل انزيمات القطع المختلفة ، كما أن بها جين ، يمكن من خلاله متابعة حدوث ظاهرة التثبيط بالغرز Insertional inactivation .

إستخدام الفاجات كناقل جينى : Bacteriophages as cloning vector

يعتبر الفاج لمبدا (Phage Lambda λ) ، من أهم الفاجات المستخدمة كناقل جينى ، فهذا الفاج الذى يستخدم فى الاستقطاع المتخصص Specialized transduction ، يمكن استخدامه أيضاً كناقل جينى . وهو ناقل ملائم لأن تركيبه معروف ، كما أنه يستطيع حمل جزء من الدنا يمكن تعبئته فى الحبيبة الفيروسية فى المعمل ، كما أن حوالى ثلث جينوم الفاج لمبدا ليس أساسيا ، وبالتالى يمكن استبداله باستخدام دنا غريب ، وهذا الفاج عندما يغزو عائلاً مناسباً ، فإن هذا الغزو يكون أكثر كفاءة فى النقل الجينى ، عن عملية التحول الوراثى .

ويلاحظ أن السلالات البرية من فاج لمبدا لاتصلح كناقل جينى ، لأحتوائها على عدد كبير جداً من مواقع انزيمات القطع ، ولقد أمكن بناء فاجات معدلة متعددة ، ففى مجموعة من التعديلات التى تضم فاجات شارون Charon phages ، فقد أمكن التخلص من مواقع القطع غير المرغوب فيها باستخدام الطفرة النُقطِيّة Point mutation أو طفرة الفقد Deletion أو بالأستبدال Substitution . وعلى ذلك فقد أمكن إيجاد موقع واحد لكل انزيم قطع ، وهذا الموقع الواحد يجعل من السهل إدخال دنا غريب في موقع محدد واحد ، وفى فاج آخر معدل أمكن إيجاد موقعين لأنزيمات القطع ، بحيث يسهِّل ذلك من عملية استبدال جزء من دنا الفاج بجزء من الدنا الغريب .

---

* أنظر الترانزبوزونات ص ٥٧٨ .

وتسمى مثل هذه الفاجات المعدلة ناقلات استبدال Replacement vectors ، ومثل هذه الفاجات الناقلة ، تسهل ادخال جزء كبير من الدنا فى الفاج .

ومن التعديلات التى تمت أيضا فى مجموعة فاجات شارون ، ادخال جين β-galactosidase بالاستبدال ، ووجود هذا الجين يعتبر علامة Marker هامة بالفاج ، حيث أن الناقل الجينى عند ادخاله وتكاثره داخل سلالة من *E. coli* ، غير قادرة على تحليل اللاكتوز (Lac^-) ، فان ادخال الفاج المعدل بها ، يعمل على تكوين انزيم β-galactosidase باستخدام الجين الموجود على الفاج ، مما يؤدى إلى تكوين مستعمرات (Lac^+) ، يمكن ملاحظتها بسهولة من لون الدليل الموجود فى بيئة اللاكتوز ، وهذا يعتبر دليلاً على دخول الفاج حاملاً أى جين مطلوب ادخاله وتكاثره بداخل العائل .

وتتم خطوات إدخال جين فى فاج لمبدا واستخدامه ، كما يلى

١- عزل الدنا الذى سوف يحمل الجين من الفاج ، وقطعه باستخدام انزيمات القطع الملائمة.

٢-ربط الدنا المقطوع مع الدنا الغريب ، باستخدام إنزيم Ligase ، ويجب أن يكون طول الدنا الغريب مناسباً ، حتى يسهل تعبئة الدنا فى حبيبة الفيروس .

٣-يعبأ الدنا فى حبيبة الفيروس ، وذلك باستخدام مستخلص خلايا العائل المحتوية على بروتينات الرأس والذيل ، وإعطاء الخليط فرصة لتكوين حبيبات فاج كاملة التركيب ، قادرة على غزو العائل .

٤- استخدام هذه الحبيبات لغزو *E. coli* ، وعزل الفاج الناقل من البلاكات Plaques التى تتكون من المستعمرة العائلة .

٥- التأكد من وجود الفاج المحتوى على الدنا الغريب المعدل وراثياً Recombinant phage ، وذلك اما بطريقة تهجين الحامض النووى Nucleic acid hybridization ، أو بدراسة قدراته الوراثية .

ويلاحظ أن التعرف على الخلايا التى تم فيها الاتحادات الوراثية المطلوبة ، يكون أسهل فى حالة استخدام الفاج لمبدا كناقل استبدال Replacement vector عنه فى حالة استخدام البلازميدات ، وذلك نظرا لسهولة نقل الدنا حامل الاتحادات الوراثية باستخدام الفاج ، وأيضا لأن دنا الفاج لمبدا الذى لم يستقبل الدنا الغريب يكون صغيرا جدا ، بحيث لايمكن أن ينجح فى أن يعبأ داخل حبيبة فاج .

ويجب أن نلاحظ أن هناك حداً أقصى لكمية الدنا الغريب ، التى يتم ادخالها فى دنا الفاج ، حيث تبين أنها إذا زادت عن ١٠٥% عن حجم جينوم الفاج الطبيعى ، فانها تؤثر على ثبات وحيوية الفاج .

الكوزميدات : Cosmids*

الكوزميد عبارة عن ناقل بلازميدى يحتوى دنا غريب علاوة على منطقة Cos ، أى منطقة ارتباط Cohesive site مأخوذة من الفاج لمبدا . ومنطقة Cos ضرورية فى فاج لمبدا حتى يستطيع أن يعبىء الدنا داخل حبيباته ، فاذا مأأدخلت Cos فى البلازميد ، فإن البلازميد يصبح قابلاً لامكانية تعبئته داخل حبيبة فاج لمبدا معمليا ، ويستخدم الفاج بعد ذلك فى نقل الصفات الوراثية الجديدة الى *E. coli* بطريقة الاستقطاع .

وتتميز الكوزميدات بقدرتها على حمل جزء كبير من الدنا الغريب (طوله يصل الى ٤٥ كيلو قاعدة) ، مما يجعل الكوزميد قادرا على حمل جينات من كروموسومات خلايا حقيقية النواة ، كما يمكن استخدام الكوزميد فى تخزين الدنا بصورة أحسن من البلازميد ، كما أن وجود الدنا من حبيبة الفاج يجعل الكوزميد أكثر ثباتاً من البلازميدات ، ولذلك فإن الكوزميد أصبح أحد وسائل العمل الهامة المستخدمة فى بنك الجينات Gene banking .

الناقلات الأخرى

بالاضافة إلى البلازميدات والفاجات ، فإنه يوجد ناقلات أخرى ، ولهذه الناقلات إضافة الى دورها فى نقل الدنا ، فان لها فوائد أخرى ، ومن هذه الناقلات ، الكروموسومات الاصطناعية للخميرة Yeast artificial chromosomes (YACs) .

فمن المعروف أن البلازميد يحتوى دنا أقل من الفاج ، والفاج يحتوى دنا أقل من الكوزميد ، ومن المعروف أيضا أن عمل مكتبة جينية لجينوم كائن ثديى (٣ × ١٠^٩ زوج من القواعد) ، يتطلب نقلاً لجينات أكثر كثيراً عما فى حالة جينوم البكتريا (٥ × ١٠^٦ زوج من القواعد) ، ولكى يتم ذلك بنجاح فإنه لابد من توفر ناقل جينى مناسب وقادر على ذلك ، وقد أمكن الحصول على هذا الناقل الجينى ، المناسب لنقل أجزاء كبيرة جداً من الدنا ، باستخدام الكروموسومات الاصطناعية للخميرة YACs .

* كلمة كوزميد Cosmid مصطلح ، يجمع بين مقطع Cos المأخوذ من Cohesive site (الموجود فى فاج لمبدا) ، ومقطع mid المأخوذ من Plasmid .

ولقد صممت كروموسومات YACs بحيث يمكنها أن تتضاعف فى الخميرة كما لو كانت كروموسومات طبيعية ، وتتميز فى نفس الوقت بوجود مواقع يمكن ادخال أى دنا غريب فيها وتخزينه ، وكروموسومات الـ YACs لابد أن يحتوى كل منها على أصل للتضاعف Origin of replication ، وتيلومير [1] Telomere فى نهايات الكروموسوم ، وسنترومير [2]، حتى يمكن لتلك الكروموسومات أن تنعزل Segregate أثناء الانقسام غير المباشر Mitosis ، كما يجب أن تحتوى على مواقع لغرز الجينات التى فيها دلائل [3] Markers انتقائية Selectiveلمتابعة حدوث ادخال الجينات عند نقلها الى عامل معين .

وحجم كروموسوم YACs حوالى ١٠ كيلو زوج قواعد ، ولكنه يستطيع أن يحمل داخله من ٢٠٠-٨٠٠ كيلو زوج من القواعد من الدنا ، وعندما يراد أخذ جين معين أو منطقة من الدنا من الـ YACs ، فإن هذا الجين ، أو المقطوعة من الدنا ، يعاد تحميله على بلازميد أو فاج ، وذلك للاستخدامات المختلفة .

وبسبب القدرة الكبيرة للكروموسومات الاصطناعية للخميرة على نقل أجزاء كبيرة من الدنا ، فقد استخدمت هذه الكروموسومات كناقل جينى ، لعمل خريطة التتابع الخاصة بالجينوم البشرى .

عوائل الناقل الجينى : Host of cloning vectors

لابد للعائل المناسب للناقل الجينى أن يكون سريع النمو ، ينمو بسهولة على بيئة رخيصة ، وأن يكون غير ضار وغير ممرض ، ويمكن إجراء التحول الوراثى فيه بسهولة Transformable ، وأن يكون ثابتاً فى المزرعة .

ومن الطبيعى ، فإن أنسب العوائل هى البكتريا ، فهى تُنمَّى بسهولة ، وكثير من المعلومات الوراثية متوفرة عنها ، ومن أهم العوائل المستخدمة كناقلات للجين *B.subtilis &* *E. coli* ، بالاضافة الى خميرة الخباز *Saccharomyces cerevisiae* .

---

[1] تيلومير **Telomere**

نهاية محددة عند طرف الكروموسوم ، تتكون من قواعد نتروجينية ، وهى تعطى للكروموسوم ثباتاً وتفرداً مميزاً ، ويعتبر التيلومير حدوداً للكروموسوم ، غير قابل للإلتحام مع مناطق أخرى من الكروموسومات المجاورة .

[2] سنترومير **Centromere**

المنطقة التى ينقسم عندها الكروموسوم الى زراعين ، أو التى يتصل فيها الكروموسوم بالمغزل عند حدوث الانقسام الخلوى .

[3] علامة ، مبين ، دليل **Marker** .

جينات مميزة بالكروموسوم ، تؤخذ كعلامة لدراسة الجينات الأخرى .

العوائل ذات الخلايا بدائية النواة : Procaryotic hosts

رغم أن أكثر أنواع البكتريا استخداماً كعائل للناقل الجينى هى *E. coli* ، إلا أن هناك اعتراضات على استخدام هذه البكتريا ، من أهمها أن بعضها ممرض ، وحتى الأنواع غير الممرضة منها فإنها تُكوّن توكسينات معوية داخلية Endotoxins ، من الممكن أن تلوث المنتج الذى تستخدم البكتريا فى إنتاجه ، وخصوصا لو كان هذا المنتج يستخدم فى العلاج بالحقن . ويعاب على *E. coli* أيضا احتفاظها بالإنزيمات الخارجية فى الفراغ البريبلازمى Periplasmic space ، مما يعقد عملية عزل المنتج النهائى .

ومن ناحية أخرى ، فلقد أمكن إنتاج سلالات من بكتريا *E. coli* ، تم بها حل أغلب هذه المساوىء ، ونظرا لأن هذه السلالات البكتيرية تتميز بأن المعلومات الوراثية والكيموحيوية عنها متوفرة ، فانها لازالت هى البكتريا المرغوب فيها كعائل فى الهندسة الوراثية .

أما النوع البكتيرى الموجب لصبغة جرام *B. subtilis* ، فإنه يتميز بأنه غير ممرض ، ولايكون توكسينات داخلية ، ويتم إفراز البروتينات التى يكونها خارج خلاياه بسهولة ، ورغم أن التقنيات لاستخدام بكتريا *B. subtilis* ، لم تصل بعد لمستوى جودة التقنيات المستخدمة مع بكتريا *E. coli* ، إلا أن وجود بلازميدات وفاجات مناسبة لبكتريا *B. subtilis* ، أصبحت عاملا مشجعاً فى إمكانية استخدام هذه البكتريا كعائل للناقل الجينى ، خاصة وقد أصبحت تقنيات استخدامها كعائل ، أكثر توافراً عن ذى قبل .

ورغم ذلك ، فإن من عيوب استخدام *B. subtilis* ، صعوبة المحافظة على تضاعف البلازميد داخلها بعد عدة نقلات على بيئة جديدة ، كما أن الدنا الغريب لايمكن المحافظة عليه داخل خلية *B. subtilis* ، مما يؤدى إلى اختفاء الجين المنقول فجأة .

ومن المعروف أن الميكروب المستخدم كعائل للناقل الجينى ، لابد أن يحتوى على صفات وراثية يمكن تتبعها ، فإذا كان الناقل الجينى يحتوى على جين β-galactosidase ، فإن العائل لابد أن يكون طفرة بالنسبة لهذا الجين . وإذا كان الناقل الجينى مثل فاج M13 ، يغزو بكتريا الكولاى ، عن طريق شعيرات الجنس F. pili ، فإن العائل الذى يُستخدم مع هذا الناقل الجينى ، لابد أن يحتوى على شعيرات الجنس .

ومثل هذه الاعتبارات ، وغيرها ، يمكن ملاحظتها عند إختيار العائل ، سواء أكان ذلك العائل من خلايا بدائيات النواة ، أو من خلايا حقيقيات النواة .

العوائل ذات الخلايا حقيقية النواة : Eucaryotic hosts

إن استخدام الكائنات حقيقية النواة كعوائل للناقل الجينى لها أهميتها ، خصوصا فى مجال دراسة تنظيم عمل الجينات فى الخلايا الراقية ، وتعتبر خميرة الخباز أحسن الكائنات المدروسة وراثياً ، وقد استخدمت بكثرة كعائل للناقل الجينى ، ولقد أمكن الحصول على بلازميدات وأيضا على كروموسومات اصطناعية للخميرة YACs .

وتعتبر القدرة على إدخال مادة معدلة وراثياً بالخلايا الراقية ، وسيلة جديدة لدراسة الاستنساخ وتتبع عمليات الترجمة المعقدة ، التى تحدث بتلك الخلايا .

عزل وادخال جينات الثدييات فى البكتريا ، والتعبير عنها

ان الجين المطلوب عزله من كائن معقد مثل الانسان ، يعتبر عملا صعبا ، لأنه يوجـد فى كمية ضخمة من المادة الوراثية ، نقلها وعزلها عملية معقدة ، غير أن هناك بعض الطـــرق للوصول الى الجين المطلوب .

ويمكن تلخيص الطرق الأساسية للحصول على الجين ، فيما يلى [أنظر شكل ٨ (٣)-٣]

١-الحصول على الجين عن طريق الرنا الرسول mRNA

تتميز طريقة الحصول على الجين من خلال mRNA ، بانــه ســوف يتـم اسـتبعاد التتابعات غير المشفرة أو الإنترونات ، حيث لايتم استنساخها عند تكوين mRNA .

ويتم استخدام طريقة mRNA فى الحصول على دنا مكمل (cDNA) ، عن طريق الاستنســـاخ العكسى Reverse transcription .

وميزة استخدام الــ mRNA أيضا فى الحصول على الجين ، تأتى من أن البحث عــن mRNA ، يتم فى الموقع أو النسيج الذى يتم فيه التعبير عن الجين ، وفى هذا الموقـــع يتوقـع وجود mRNA بكميات كبيرة .

ومن المعروف ، إنه فى الخلية المثالية من خلايا الثدييات ، يمثل الــ mRNA حوالـــى ١-٥% من الرنا الكلى ، ومع ذلك فإنه من السهل التعرف عليه ، حيث يحتوى الطرف 3`-end للجزىء ، على ذيل من عديد الادنين (poly A) ، فإذا أمررنـــا المســتخلص المحتــوى علـى mRNA فى عمود كروماتوجرافى يحتوى على عديد الثايمين poly T ، فإن أغلب الــ mRNA يمكن فصله عن باقى أنواع الرنا ، حيث يتم استخلاصه من العمـــود بعــد ذلـــك ، بـــالتمليص Elution [١]

يتم استخدام الــ mRNA فى عمل دنا مكمل ، باستخدام انزيم الاستنساخ العكســـى[٢] Reverse transcriptase ، وكما هو معروف فان هذا الإنزيم يلزمه بادىء[٣] Primer لعملــه ، وفى حالتنا هذه يستخدم البادىء من poly T ، حيث يعمل مكملاً للذيل المكون من poly A فـــى الــ mRNA ، حيث يكونان هجناً مع بعضهما فيبدأ الانزيم عمله ، وبعد تكون الـــــ cDNA ، يقوم الإنزيم ببناء السلسلة المزدوجة من الدنا ، حيث يستخدم بعد ذلك فى عمليـــة إدخالـــه فـــى بلازميد ، كناقل جينى مثلا .

---

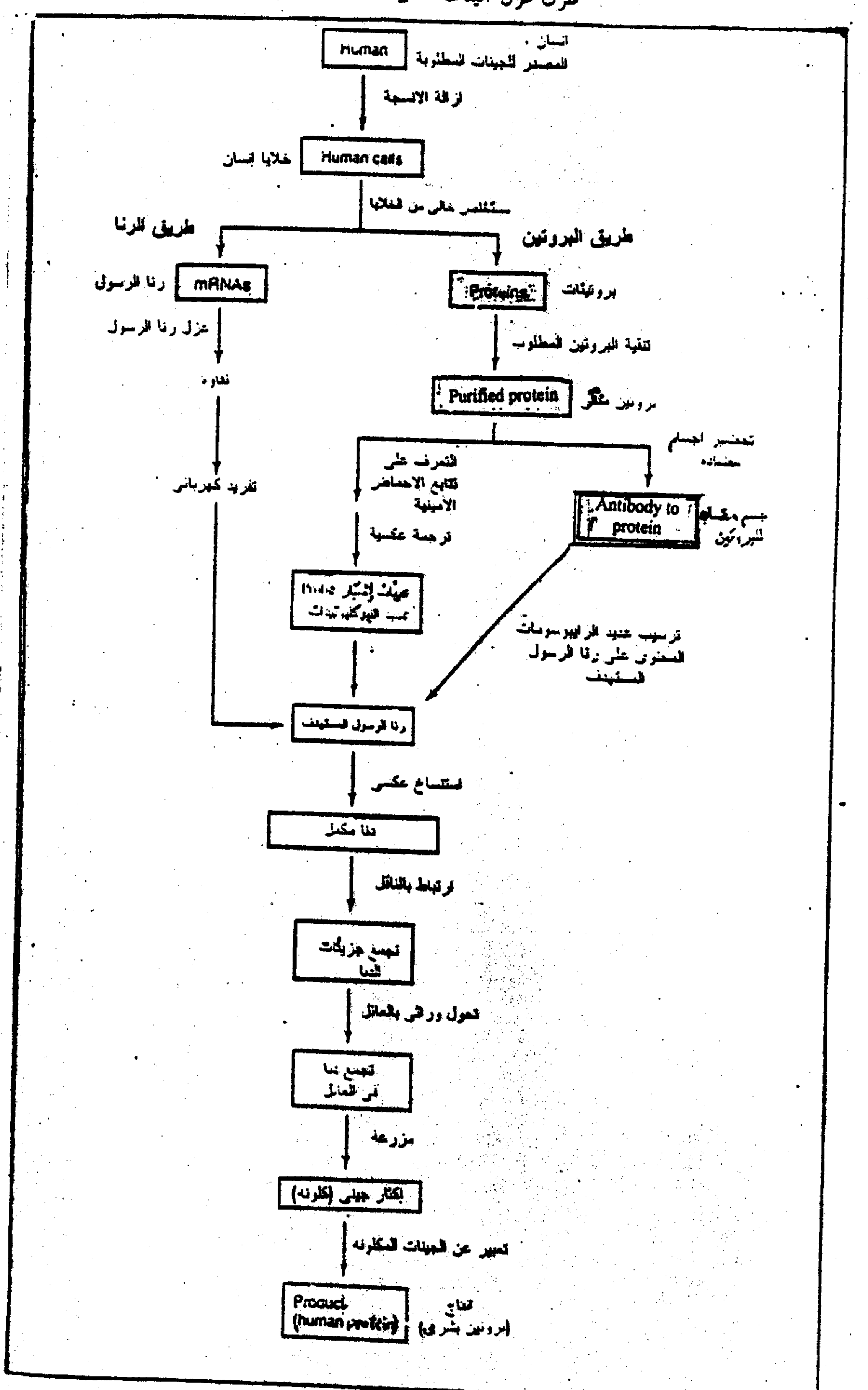
(١) تمليص **Elution** : استخلاص مادة مدمصة (ممتزة) ، من مادة مازة ، بواسطة مذيب .

(٢) إنزيم الاستنساخ العكسى **Reverse transcriptase**

هو إنزيم دنا بوليمريز يحث على تخليق دنا فردانى ، مستخدماً الرنا ، بدلاً من الدنا ، كقالب ، أى أن هذا الانزيم يعمل على نسخ الدنا من الرنا .

(٣) بادىء ، ممهد ، مادة ممهدة **Primer**

مادة تضاف فى البيئة الجارى تخميرها ، لتشجع على انتاج المادة المطلوبة .



شكل ٨ (٣)-٣ : الطرق المختلفة لعزل والحصول على الجينات من الثدييات .

٢ - الحصول على الجين من خلال البروتين

إذا لم يكن ممكنا الحصول على الجين عن طريق mRNA ، فإن هناك طريقتين أخرتين للحصول على الجين ، من خلال انتاج البروتين الخلوى ، هما طريقة الترجمة العكسية Reverse translation ، وطريقة ترسيب البولى رايبوسوم (عديد الرايبوسومات) .

أ - طريقة الترجمة العكسية

من أكثر الطرق استخداماً للحصول على الجين فى حالة وجود كمية قليلة من mRNA ، هى عمل دنا صناعى ، بحيث يكون مكملاً لجزء من mRNA ، ثم يتم استخدام هذا الدنا كمجس [١] Probe ، فى تقنية ساذرن [٢] Southern blotting technique ، للوصول الى mRNA الكامل . ومثل هذه الطريقة ، تتطلب أن يكون جزء أو كل تتابع الأحماض الأمينية فى البروتين معروفاً ، ومن خلال معرفة الشفرة الوراثية ، فإن تتابع القواعد لهذا الجزء من الدنا يمكن معرفتها ، وبالتالى يمكن معرفة بناء هذا الجزء من الدنا . وتسمى معرفة تتابع القواعد ، من خلال معرفة تتابع الأحماض الأمينية ، بالترجمة العكسية .

ورغم السهولة التى تبدو من تقنية الترجمة العكسية ، إلا أن وجود أكثر من شفرة لأغلب الأحماض الأمينية يعقد العمل ، حيث أن الشفرة السائدة لكل حامض أمينى تختلف من كائن لآخر ، ولهذا فإن أحسن جزء من الدنا يمكن بناؤه بهذه الطريقة ، هو ذلك الجزء الذى ينتج من ترجمة عكسية لأحماض أمينية لها شفرة واحدة فقط أو شفرتين على الأكثر .

ب - طريقة ترسيب البولى رايبوسوم

تتضمن هذه الطريقة فصل معقد الرايبوسومات من النسيج ، أثناء بناء البروتين ، وذلك باستخدام أجسام مضادة للبروتين المتكون ، وعند الترسيب تكون السلسلة الببتيدية مازالت مرتبطة بالـ mRNA فيرسب معها ، وبذلك يمكن الحصول على mRNA ، واستخدامه فى بناء cDNA بالاستنساخ العكسى .

---

(١) مجس ، عينة اختبار **Probe**

مادة حيوية ، أو مقطع من حامض الدنا ، تكون موسومة غالباً بمادة مشعه مثل الفوسفور المشع ^{32}P ، حتى يسهل التعرف عليها وتتبعها خلال عملياتها الحيوية .

ويستخدم المجس للتعرف على جين ، أو لعزل جين ، أو لعزل أحد البروتينات .

(٢) تقنية ساذرن : **Southern blotting technique**

تقنية تنسب لاسم أول من استخدمها ، وهى تُستخدم للبحث عن تتابع من حامض الدنا ، يكون مكملاً لمقطع معين معزول من الدنا .

التعبير عن جينات الثدييات فى البكتريا : Expression of mammalian genes in bacteria

يتطلب التعبير عن جين الثدييات فى البكتريا ، ربط الجين المطلوب التعبير عنه بجين محرض Promoter قوى منشط للأوبرون (الجين العامل) ، مع توفر منطقة ارتباط بالرايبوسوم البكتيرى Bacterial ribosome binding site ، وأيضا توفر اطار قراءة صحيح لإدخال الجين المطلوب بطريقة تسمح بالتعبير عنه كجزء من بروتين مندمج Fusion protein ، يتضمن فى طرفه جزءاً من تتابعات أحماض أمينية من بروتين بكتيرى .

ومثل هذا البروتين المندمج ، يكون أكثر ثباتاً فى البكتريا ، ويمكن نزع الجزء الزائد (الجزء البكتيرى) منه ، بطريقة إنزيمية أو كيميائية ، ويلاحظ أن وجود جزء من بروتين بكتيرى مع البروتين المطلوب ، يساعد فى إنتقال هذا البروتين ، من داخل خلية العائل ، إلى خارجها .

أما إذا أردنا إنتاج بروتين غير مندمج ، فإن الجين المطلوب إدخاله والتعبير عنه ، لابد أن يتم إدخاله فى جينوم الناقل الجينى ، وذلك بعد موقع الشفرات التى تحكم منطقة الارتباط بالرايبوسوم ، أى أن منطقة الارتباط بالرايبوسوم سوف يكون مصدرها الناقل الجينى . كما أنه من المطلوب أيضا أن يكون مصدر شفرة البدء Initiation codon من الناقل الجينى .

وللحصول على ترجمة صحيحة وجيدة لابد عند إدخال الجين فى الناقل ، أن يراعى وجود منطقة من الدنا لاتقوم بالتشفير Noncoding ، بطول ملائم ، بين منطقة الإرتباط بالرايبوسوم وشفرة البدء .

تطبيقات الهندسة الوراثية

للهندسة الوراثية نواحى تطبيقية عديدة ، وسنشير هنا بايجاز شديد ، إلى بعضا من تطبيقاتها التجارية ، فليس هدفنا التعرض لدراسات تفصيلية فى هذه المواضيع ، بل أن هدفنا هو توجيه النظر إلى المجالات المتعددة التى يمكن أن تساهم من خلالها تقنيات الهندسة الوراثية فى خدمة الإنسان ، وذلك من خلال دورها المفيد فى انتاج مواد حيوية مفيدة ، وفى الحصول على منتجات ذات قيمة عالية ، وفى مجال تفهم عمل الجينات فى الثدييات ، واكتشاف الأمراض الوراثية ، وتطبيق وسائل العلاج الجينى .

ومن تلك التطبيقات ، مايتم فى المجالات التالية

١ –مجال التخمرات الميكروبية

أمكن إنتاج العديد من المركبات على المستوى الصناعى باستخدام الميكروبات المعدلة وراثيا ، مثل المضادات الحيوية ، حيث أمكن زيادة إنتاجها ، وإنتاج أنواع معدلة منها .

٢ – مجال إنتاج الفاكسينات المضادة للفيروسات

فى العادة تستخدم الفيروسات المقتولة فى اعداد الفاكسينات ، ورغم الدقة فى أعداد الفاكسينات ، إلا إنه يخشى من أخطار تأثيرها على الأفراد ، ولما كان الجزء الهام فى إحداث المناعة من الفيروس هو غطائه البروتينى ، فإنه أصبح من المرغوب فيه ، إنتاج هذا البروتين منفصلاً عن باقى الفيروس ، وقد أمكن من خلال الهندسة الوراثية التعبير عن جين الغطاء البروتينى للفيروس فى البكتريا لاعداد فاكسين أمن .

وتتجه البحوث الأن بشكل مكثف ، لانتاج لقاحات ضد مسببات الأورام ، ومرض الايدز ، وكذلك لقاحات ضد بعض مسببات الأمراض الطفيلية ، مثل بروتوزوا الملاريا .

٣ – مجال إنتاج بروتينات الثدييات

كثير من بروتينات وهرمونات الثدييات لها قيمة طبية أو تجارية هامة ، وإستخلاص هذه البروتينات من الأنسجة ، عمل معقد ومكلف أو غير ممكن ، لهذا فإن عزل جينات هذه البروتينات ، وإنتاجها فى البكتريا يمثل حلا مناسباً ، ومن أمثلة هذه المواد ، الانسيولين البشرى ، وهرمونات النمو والانترفيرون، والعوامل المضادة للأورام[أنظر جدول ٨ (٣) – ٢] .

٤ – مجال إنتاج نباتات أو حيوانات محورة وراثياً : Transgenic plants and animals

يمكن من خلال الهندسة الوراثية تعديل تركيب النباتات والحيوانات ، وتهدف هذه التعديلات أساسا الى تحسين وزيادة محاصيل الإنتاج الزراعى والحيوانى ، أو رفع قيمتها الغذائية ، أو زيادة مقاومتها للأمراض والحشرات ، وللظروف البيئية السيئة كالجفاف والملوحة أو إنتاجها لبروتينات لم تكن أصلا تنتجها .

أ - النباتات الاقتصادية المحورة وراثيا

من المعروف أن استخدام طرق الوراثة التقليدية لتحسين النباتات ، سواء من خلال الانتخاب أو التهجين ، تعتبر طرقا بطيئة وصعبة ، ولذلك فقد أدى استخدام الطرق المعتمدة على تقنيات الهندسة الوراثية ، إلى حدوث إنقلاب ضخم فى هذا المجال . إذ أصبح من الممكن إحداث تغيير وراثى فى نسيج نباتى ، ثم باستخدام تقنيات طرق زراعة الأنسجة ، يتم إكثار الخلايا المعدلة وراثيا وتحويلها إلى نباتات كاملة .

ويمكن إدخال الدنا لاحداث التحولات الوراثية داخل الخلايا ، إما بالتحول Transformation ، أو بالإدخال الكهربائى Electroporation ، أو بإدخال الدنا الغريب مباشرة فى النبات ، عن طريق بكتريا *Agrobacterium tumefaciens* (التى تسبب أصلا مرض التدرن التاجى Crowngall فى النباتات ، وذلك بعد تحويلها الى بكتريا غير ممرضة بالهندسة الوراثية) .

ب - الحيوانات المحورة وراثيا

لقد أمكن من خلال تقنية الإتحادات الوراثية للدنا ، ومن خلال الحقن الدقيق لادخال جين مكلون Cloned فى بويضة مخصبة ، أمكن التعبير عن جينات عديدة غريبة فى حيوانات التجارب ، والاستفادة من ذلك على المستوى التجارى .

ولقد أصبحت الحيوانات المحورة وراثيا ذات أهمية كبيرة فى المجالات الزراعية والبيطرية ، وفى مجال البيولوجيا الطبية ، ولعل من أهم التطبيقات فى هذا المجال هو زيادة إنتاجية الحيوان أو زيادة مقاومته للأمراض .

ومن التطبيقات الطبية الهامة ، استخدام الحيوان فى إنتاج بروتينات لها قيمة صيدلانية ، مثل إنتاج إنزيمات تجلط الدم Blood clotting enzymes ، وانتاج البروتينات التى لايمكن إنتاجها فى صورتها النشطة إلا من خلال استخدام الهندسة الوراثية فى البكتريا [أنظر جدول ٨ (٣) - ٢] .

كما أمكن هندسة إنتاج بروتينات معينة ذات فوائد طبية ، حيث يتم إفرز هذه البروتينات فى اللبن ، ثم يتم فصلها بعد ذلك ، ومن أمثلة هذه البروتينات α-L-antitrypsin ، الهام فى علاج أمراض الرئة . وأمكن إنتاج منشط تكوين بلازمين * الأنسجة Tissue plasminogen activator الذى يذيب الجلطات ، كما أمكن استخدام الخنزير المحور وراثيا فى إنتاج هيموجلوبين بشرى كبديل للدم ، فى عمليات نقل الدم .

---

* البلازمين **Plasmin** ، إنزيم من نوع الببتيديز يوجد فى بلازما الدم ، يذيب فيبرين حلطة الدم .

٥ ـ مجال البيئة

تحتوى البكتريا بأنواعها الشديدة التنوع ، على العديد من الجينات التى تحكم تحلل الكثير من الملوثات البيئية ، ولقد اكتشف فى عديد من البكتريا ، جينات قادرة على تحليل الكثير من السموم والملوثات ، ولقد تتبع علماء الهندسة الوراثية هذه الجينات للإستفادة منها ، لغرض الحصول على بيئة نظيفة ، وبالتالى فقد أمكن إنتاج سلالات بكتيرية معدلة وراثياً ، قادرة على تحليل المبيدات الكلورينية Chlolrinated pesticides ، وأيضا تحليل العديد من المبيدات الهيدروكربونية ، وغيرها .

٦ – مجال تنظيم الجينات والعلاج الجينى : Gene regulation and gene therapy

هناك دراسات كثيرة تتناول تعديل الجينات والتحكم فى عملها ، وأيضا هناك دراسات عديدة فى مجال إكتشاف الأمراض الوراثية ، وتطبيق العلاج الجينى .

والجدول التالى [٨ (٣) – ١] يوضح بعض الأمراض التى تعالج باستبدال أو بنقل الجينات إلى أنسجة جسدية

جدول ٨ (٣) – ١ :

المـــرض	النسيج المستهدف
نقص انزيم أدينوزين دى أمينيز	نخاع العظام
الثالاسيميا ، مرض الخلايا المنجلية*	نخاع العظام
نقص إنزيم أورنثين ترانس كارباميليز	الكبد أو الأمعاء الدقيقة

* ثالاسيميا ، مرض الخلايا المنجلية ، مرض فقر الدم البحرى Thalassemia نوع من الأنيميا ، فهى أنيميا وراثية ، منتشرة فى حوض البحر الأبيض المتوسط . ويسبب الثالاسيميا وجود طفرات فى جين الهيموجلوبين ، تسبب حدوث تشوهات فى شكل كرات الدم الحمراء ، وتكسيرها ، وعدم توازن فى نسب وحدات الهيموجلوبين المتواجدة بالدم .

كما يوضح الجدول التالى [٨ (٣) – ٢] بعض المنتجات الهامة ، التى أمكن إنتاجها من خلال تقنيات الهندسة الوراثية ، كما أنه من المنتظر ظهور العديد من المنتجات المعدلة وراثيا خلال السنوات القليلة القادمة ، ونظرا لأن الانسيولين يعتبر هو أول دواء حقيقى ناتج عن هذه التقنية ، فإننا سوف نذكره كمثال .

جدول (٨ (٣)- ٢ : بعض المنتجات البروتينية الهامة التى أنتجت من خلال تقنيات الهندسة الوراثية [١] .

المنتج	مجالات الاستعمال
بروتينات الدم Blood proteins	
منشط تكوين بلازمين الأنسجة Tissue plasminogen activator	إذابة الجلطة
عامل ، Factor ، [٢] VII ، VIII و IX	الحث على تكوين الجلطة
أرثروبويتين .... Erythropoietin [٣]	زيادة كرات الدم الحمراء
يورو كاينيز .... Urokinase	تخثير الدم
هرمونات Hormons	
إنسيولين .... Insulin	علاج مرضى السكر
هرمون نمو بشرى .... Human growth hormone	علاج التقزم
عامل نمو الابيدرمس .... Epidermal growth factor	التئام الجروح
هرمون البزراثايرويد .... Parathyroid hormone	تنظيم تخليق الكالسيوم بالجسم
بيتا - اندورفين .... β - endorphin	مسكن للآلام
عامل نمو العظام .... Bone growth factor	علاج هشاشة العظام .... Osteoporosis
أتريوببتين .... Atriopeptin	• مدر للبول .... Diuretic • علاج ارتفاع ضغط الدم
مؤثرات مناعية .... Immune modulators	
انترفيرونات .... Interferons	مضادات فيروسية
انترليوكين - ٢ .... Interleukin-2	منبه لانتاج خلايا تائية T-cells stimulator
ليسوزيم .... lysozyme	مضاد للالتهابات
لقاحات Vaccines	
الالتهاب الكبدى بى .... Hepatitis-B	وقاية من الالتهاب الكبدى بى
الحصبة .... Measles (Rubeola)	وقاية من الحصبة
الكوليرا .... Cholera	وقاية من الكوليرا
الإيدز .... AIDS	وقاية من الإيدز
السعار (الكلب) .... Rabies	وقاية من السُعار

١- ومازالت البحوث مستمرة ، لانتاج العديد من المواد المعدلة وراثيا .
٢- VII ، VIII و IX ، عوامل بروتينية توجد بالدم ، تؤثر على تجلط الدم .
٣- الارثروبويتين ، عامل يوجد بالدم ، يؤثر على تكون كرات الدم الحمراء .

إنتاج الانسيولين البشرى : Human insulin

الانسيولين عبارة عن هرمون عديد الببتيدات ، تفرزه خلايا بيتا فى جزر لانجرهانز بالبنكرياس ، وهو ينظم أيض السكريات بجسم الحيوان ، ومسئول عن تنظيم نسبة السكر بالدم ؛ بتحويل الجلوكوز الزائد إلى جليكوجين يخزن بالكبد . ويحدث مرض السكر نتيجة لنقص الانسيولين بسبب تلف جزر لانجرهانز ، ويتأثر بمرض السكر ملايين الأفراد على مستوى العالم .

ولقد استخدم الانسيولين من مصادر حيوانية فى العلاج بالحقن ، سواء أكان مأخوذا من البقر ، أو من الخنازير نظراً لتشابه تركيبه مع تركيب الانسيولين البشرى , ومع هذا فقد ظهر أن الانسيولين المأخوذ من مصادر غير بشرية يكون أقل تأثيراً من الانسيولين البشرى ، لهذا ظهرت الحاجة الى استخدام الهندسة الوراثية فى عزل واكثار جين الانسيولين البشرى والتعبير عنه .

ولقد تم عمل ذلك بنجاح فى الربع الأخير من القرن الماضى ، حيث أمكن عزل الجين البشرى الخاص بإنتاج الانسيولين ، ثم أمكن إدخاله فى بكتريا *E. coli* ، وأعقب ذلك ، استخدام هذه البكتريا المعدلة وراثيا فى إنتاج الانسيولين البشرى تخميريا ، بكميات كبيرة وعلى درجة عالية من النقاوة .

وحاليا ، ينتج الانسيولين البشرى المعدل وراثيا ، بشكل تجارى بطرق تخميرية ، وعقب انتهاء عملية التخمير ، يستخلص الانسيولين المنتج ، وينقى ، ويسوق للاستعمال الادمى .

ويعتبر النجاح فى انتاج الانسيولين البشرى عن طريق الهندسة الوراثية ، الذى تم عام ١٩٨٢ ، من أوائل النجاحات المبهرة فى استخدام البكتريا فى التعبير وانتاج البروتينات البشرية .

التعامل مع المواد المعدلة وراثيا

على الرغم مما نلاحظه من دور الهندسة الوراثية فى تطور التكنولوجيا الحيوية ، وفى الحصول على منتجات ذات قيمة عالية ، إلا أن هناك حرصا شديداً ، وقواعد حازمة فى التعامل مع المواد المعدلة وراثياً ، وأى منتج معدل وراثياً يستخدمه الإنسان ، لابد وأن يمر بدراسات مكثفة .

وعلى سبيل المثال ، فإن أى منتج معدل وراثيا وخاص بالعلاج ، فانه قبل أن يستخدم فى العلاج ، لابد وأن يمر بمراحل بحثية وتجريبية طويلة ، قبل أن تسمح هيئة الأغذية والعقاقير الأمريكية FDA ، بتداوله فى الولايات المتحدة ، وهناك مئات من المنتجات التى يتم إختبارها قبل إقرار استخدامها فى السوق ، إذ إن من أهم مايشغل فكر العلماء ، هو أثر الكائنات المعدلة وراثيا على التنوع البيولوجى والتوازن الحيوى .

References **مراجع الباب الثامن**

Alberts, B.; D. Bray; J. Lewis; M. Raff; K. Roberts and J.D. Watson (1983). Molecular Biology of the Cell, Gerland Pub. Inc., New York.

Bainbridge B.W. (1980). Genetics of Microbes. Blackie and Sons, Glascow, U,K.

Brock, T.D.; M.T. Madigan; J.M. Martinko and J. Parker (1994). Biology of Microorganisms. 7th Ed., Printice-Hall, Englewood Cliffs, N.J., USA.

Freifelder D. (1987). Microbial Genetics. Jones and Bartlett, Boston, USA.

Gardner E.J. and P. Snustad (1984). Principles of Genetics. 7th Ed., John Wiley and Sons Inc., New York.

Hayes, W. (1988). The Genetics of Bacteria and Their Viruses. John Wiley and Sons Inc., New York.

Lewin, B. (1983). Genes. John Wiley and Sons Inc., New York

Madigan, M.T.; J.M. Martinko and J. Parker (1997). Brock Biology of Microorganisms 8th Ed., Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N.J., USA.

Watson, J.D. (1996). Molecular Biology of the Gene. Benjamin Inc., New York.

﴿الباب التاسع﴾

الانزيمات والتنظيم الانزيمى

المحتويـــات

الموضوع | الصفحة

﴿الباب التاسع – الفصل الأول﴾

الانزيمـــــــات

المحتويـــات

الموضوع | الصفحة

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة

(الباب التاسع)
الإنزيمـــــــات والتنظيم الانزيمى
Enzymes and Enzyme Regulation

(الباب التاسع - الفصل الأول)
الإنزيمـــــــات

نبذة تاريخيـــــة :

يرجع الفضل فى إكتشاف الإنزيمات ، إلى العالم الفرنسى لويس باستير عـــام ١٨٦٠ ، الذى كان يدرس فى ذلك الوقت ، التخمرات الخاصة بالبيرة والنبيذ ، واكتشف أن عملية التخمـر تتم بواسطة فطر الخميرة ، بما يحتويه الفطر من مواد نشطة توجد بداخل خلاياه .

وقد سمى العالم الألمانى Kuhne ، تلك المواد النشـــطة الموجـودة بـالخميرة بأسـم Enzymes ، وهى كلمة ذات أصل يونانى تعنى In yeast ، أى فى الخميرة ، نظرا لوجود تلـك المواد النشطة بداخل خلايا الخميرة ، وقد لاحظ Kuhne أيضا ، أن مستخلص خلايا الخمـيرة ، يحتوى على هذه المواد النشطة (الإنزيمات) ، بما يعنى أن التخمر يمكن أن يتـم فـى وجـود الكائنات الحيه ، أو فى غيابها ، بعد الحصول منها على الإنزيمات .

ثم لاحظ العالمان Persoz & Payen عام ١٩٣٣ إحتواء الراسب الكحولى لخلاصات الشـعير ، على مادة عضوية (هى الأماليز) ، قادرة على تحويل النشا الى سكر ، ثم قام كل من Kodama & Dixon عام ١٩٣٦ باستخلاص إنزيم Xanthine oxidase من بعـض الكائنـات الدقيقـة . وبذلك بدأ عصر التخمرات الصناعية .

وقد تطور علم الإنزيمات بعد ذلك بسرعة ، وأصبح له أبعادا كبيرة واضحة ، وأخـذ يرتبط بروابط قوية مع علوم أخرى مثل الكيمياء الحيوية والكيمياء الفيزيائية ، وعلوم الأحيـاء الدقيقة ، وعلوم النبات والحيوان ، والهندسة الوراثية ، وغير ذلك من العلوم .

وللإنزيمات استعمالات كثيرة وتطبيقات متنوعة ، فمنها مايستخدم صناعيا فـى إنتـاج بعض المركبات ، كما فى انتاج كحول الإيثانول ، وحامض الخليك ، وبعض المذيبات العضويـة مثل الأسيتون ، ومواد عديدة التسكر مثل الزانثان والدكستران ، كما أن منها مايستخدم فى إنتـاج المضادات الحيوية ، مثل البنسلين .

وكذلك تستخدم الإنزيمات فى تشخيص كثير من الأمراض ، مثل أمراض القلب والكبد والتخلـف العقلى ، وفى علاج بعض الأمراض ، مثل أمراض المعدة والأمعـاء والجلطـة الدمويـة ... وغيرها من الأمراض .

الإنزيمات البكتيرية : Bacterial Enzymes

الخلية البكتيرية ، كخلية أى كائن اخر ، يجب أن تكون قادرة على القيام بمجموعة من التحولات الكيميائية ، لكى تستمر حيه ، وتنمو وتتكاثر ، وتتم تلك التحولات بواسطة الإنزيمات.

وتوجد الإنزيمات بداخل الخلية بكميات ضئيلة جداً ، وتتم التفاعلات الكيميائية بداخل الخلية الحية ، بواسطة الإنزيمات ، فى تفاعلات متتالية تتم بشكل متسلسل ، تسمى دورات أيض غذائى Metabolic pathways .

ولكى تنمو الخلية بشكل طبيعى ، فإنه من الضرورى أن تكون مواد الأيض الغذائى Metabolites ، سواء الداخلة فى مسار دورة الأيض ، أو الخارجة من الدورة ، أن تكون خاضعة لدرجة عالية من التنظيم Regulation ، ويؤدى هذا التنظيم الحيوى الذى تقوم به الخلية إلى استمرار دورة الأيض بشكل سوى ، دون حدوث زيادة أو نقص فى نواتج الأيض المطلوبة، مع تنظيم دقيق لعمل الإنزيمات اللازمة للدورة ، وتخليق ماتحتاجه الخلية منها .

النظام الإنزيمى : Enzyme system

تتم دورة الأيض الغذائى داخل الخلية بمجموعة متكاملة من الإنزيمات ، تعرف بالنظام الإنزيمى Enzyme system ، التى تعمل بالتعاقب فى نظام متسلسل من التفاعلات ، حيث يقوم فيها كل إنزيم بإجراء تفاعل محدد على مادة التفاعل ، حتى يتم فى النهاية استكمال دورة خاصة بعملية حيوية معينة بداخل الخلية .

على سبيل المثال ، فإن خلايا الخميرة ، تخمر سكر الجلوكوز إلى إيثانول وثانى أكسيد كربون ، كما يتضح من المعادلة النهائية التالية

جلوكوز	+	خلايا خميرة	⟵	إيثانول + CO_2
مادة التفاعل		مصدر الانزيمات		نواتج نهائية

ولايتم تحول الجلوكوز بواسطة الخميرة فى خطوة واحدة بإنزيم واحد ، بل نصل إلى المنتج النهائى بعد مجموعة من خطوات التفاعل التى تتم بعدد من الإنزيمات ، يزيد عن أثنى عشر إنزيما ، يكمل فيها كل إنزيم عمل إنزيم سابق له ، ... وهكذا تستمر سلسلة التفاعلات ، حتى نصل للمنتج النهائى ، وهو الايثانول و CO_2 .

خواص الإنزيمات : Characteristics of enzymes

الإنزيمات عبارة عن مواد عضوية ، تنتجها الخلايا الحية ، وتوجد بداخل الخلية بكميات ضئيلة جداً ، وللإنزيمات خاصية الاسراع من التفاعلات الكيميائية ، دون أن تستهلك فى التفاعل ، وبذلك تعتبر الانزيمات من العوامل المساعدة الحيوية Biological catalysts .

وخاصيتى إسراع التفاعل ، وعدم استهلاك الإنزيم أثناء التفاعل ، يفسران كيف أن كمية صغيرة من الإنزيم ، تكون قادرة على إحداث التفاعل المطلوب .

وتمتاز العوامل المساعدة الحيوية ، أى الإنزيمات ، عن العوامل المساعدة غير الحيوية ، مثل الأحماض والقواعد والمعادن ، بقدرة الإنزيمات على بدء التفاعل دون الحاجة

الى طاقة عالية ، وبقدرتها الكبيرة على إجراء التحولات الكيميائية ، وبدرجة تخصصها العالية في إجراء هذه التحولات ، وبفقد نشاطها في وجود المثبطات .

ولأن الإنزيمات بروتينات ، أو بروتينات متحدة مع مجاميع كيميائية أخرى ، فان للإنزيمات الخواص العامة للبروتينات ، فالإنزيمات :

* ذات وزن جزيئي كبير ، يتراوح بين ١٠ آلاف إلى مليون دالتون .
* تُكوّن محاليل غروية ، ولها خواص أمفوتيرية ، ولايحدث لها ديلزة Dialysis ، بمعنى أن الإنزيمات لاتنفذ من الأغشية شبه المنفذة .
* تتلف بالحرارة ، وبالحموضة ، وبالقلوية العالية ، ومن ثم تتغير طبيعتها Denatured ، وتفقد خواصها .
* بمعاملتها بالأحماض أو القواعد أو الإنزيمات المحللة للبروتين ، تنتج عديداً من الأحماض الأمينية .
* تُرسّب من محاليلها ، بنفس الطرق التي ترسب بها البروتينات ، باستعمال كحول الإيثانول ، أو الاسيتون أو الأيسوبروبانول ، أو بالتركيزات العالية من الأملاح غير العضوية ، مثل كبريتات الأمونيوم .

مكونات الإنزيم

تتركب الإنزيمات ، كما ذكر سابقا ، أساسا من مادة البروتين ، وهذه تتكون من مجموعة من الأحماض الأمينية ، المرتبطة مع بعضها بروابط ببتيدية .

وتبعاً للتركيب نجد أن

* بعض الإنزيمات ، تتكون من جزء واحد بروتيني ، مثل إنزيم اللايبيز Lipase .
* كثير من الانزيمات تتكون من جزء بروتيني يطلق عليه صميم الإنزيم Apoenzyme ، مرتبط مع جزء آخر عضوي ، ذو وزن جزيئي صغير يسمى مرافق (قرين) الانزيم Coenzyme . ويتكون الإنزيم الكامل Holoenzyme من اتحاد الجزئين معاً ، وبدون هذا الاتحاد لايكون الإنزيم فعالا ، ويتضح خواص كل مكون ممايلي

صميم الانزيم Apoenzyme	+	مرافق الانزيم Coenzyme	←	الانزيم الكامل Holoenzyme
غير نشط		غير نشط		نشط
بروتين		جزيء عضوي		إنزيم متحد
ذو وزن جزيئي مرتفع		ذو وزن جزيئي منخفض		ذو وزن جزيئي مرتفع
يتأثر بالحرارة		متحمل للحرارة		يتأثر بالحرارة
غير قابل للديلزة		قابل للديلزة		غير قابل للديلزة

يساهم مرافق الانزيم فى إجراء الجزء المميز للتفاعل ، وهى عادة التفاعلات الخاصة بمنح أو باستقبال مجاميع كيميائية أو ذرات معينة ، أما صميم الانزيم (الجزء البروتينى) ، فهو الجزء المحدد للتخصص ، بالنسبة لمادة التفاعل .

ويمكن أن يوضح ذلك بالتفاعل الانزيمى التالى

$$\underset{\text{إيثانول}}{CH_3-CH_2OH} \xrightarrow{\text{NAD + Alcohol dehydrogenase}} \underset{\text{أسيتالدهيد}}{CH_3-CHO+H_2}$$

وفى التفاعل السابق ، نجد أن مرافق الانزيم ، الـــ NAD ، هو الذى قام بنزع أيونات الإيدروجين من الإيثانول ، أما صميم الإنزيم Alcohol dehydrogenase ، فهو الذى حدد مادة التفاعل الخاصة بالإنزيم ، وهى الإيثانول .

وتختلف قوة الربط التى تربط بين جزئى الانزيم الكامل

* فقد تكون قوة الربط بينهما ضعيفة ، وبذلك يمكن لمرافق الانزيم أن ينفصل عن صميم الانزيم ، ويتحد مع صميم إنزيم آخر ، أى ينتقل من إنزيم لآخر ، مثل إنفصال NAD من Alcohol dehydrogenase ، وإتحاده مع Lactic dehydrogenase ، فى التفاعل التالى

$$\underset{\text{لاكتيك}}{CH_3-CHOH-COOH} \xrightarrow{\text{NAD + Lactic dehydrogenase}} \underset{\text{بيروفيك}}{CH_3\text{-}CO\text{-}COOH+H_2}$$

وبذلك يستطيع مرافق الانزيم أن يشترك فى عدد من التفاعلات

* وقد تكون قوة الربط بين جزئى الانزيم الكامل ، قوية ، بحيث لاينفصل مرافق الانزيم عن صميم الانزيم ، ويطلق على هذه المجموعة المرافقة ، مجموعة منضمة Prosthetic group .

والمجموعة المنضمة عادة ماتكون مجموعة غير بروتينية ، تتحد بالجزء البروتينى من الإنزيم ، ليكوّنا معا بروتينا متحدا Conjugated protein ، ومثلها مجموعة الهيم المحتوية على الحديد ، والمتحدة مع الجلوبين لتكوين الهيموجلوبين .

* قد يكون الجزء المرافق للانزيم ، فيتامين ، مثل كثير من مجموعة فيتامين ب ، والتى يوضحها الجدول [٩ (١) - ١] .

جدول ٩ (١) -١ : بعض الفيتامينات التى تعمل كمرافق إنزيمي .

الفيتامين	مرافق الانزيم	نوع النشاط
ثيامين (فيتامين ب١)	Co carboxylase (Thiamine diphosphate)	نقل COO^-
رايبوفلافين (فيتامين ب٢)	FAD, Flavine adenine dinucleotide	نقل H^+
نياسين	NAD, Nicotinamide adenine dinucleotide	نقل H^+
بيريدوكسين (فيتامين ب ٦)	Pyridoxal phosphate	نقل مجموعة الأمين NH_2^-
حامض البانتوثنيك	Co enzyme A	نقل مجموعة الاسايل $CH_3 - CO^-$

* وقد يكون الجزء المرافق للإنزيم ، جزء معدنى ، ويسمى عامل متمم Co-factor ، ومن أمثلة تلك العوامل المتممة

- الحديد : الذى يوجد بإنزيم البيروكسيديز والكاتاليز .
- النحاس : الذى يوجد بإنزيم Ascorbic acid oxidase .
- الزنك : الذىيوجد بإنزيم Carbonic anhydrase .
- الحديد والمولبدينوم ، اللذان يوجدان بإنزيم Nitrogenase .

الإنزيمات غير النشطة : Inactive enzymes

يلاحظ أن بعض الانزيمات تفرز بحالة غير نشطة Inactive ، وتسمى مولدات الانزيم Zymogen or Pre-enzyme ، وتتحول هذه المواد إلى إنزيمات نشطة ، إذا ماوجد عامل معدنى مناسب منشط لها Metal activator ، مثل $Fe^{2+}, K^{1+}, Mg^{2+}, Mn^{2+}, Zn^{2+}$.

ومن أمثلة هذه الإنزيمات

* الفوسفاتيز ، الذى ينشط فى وجود أيونات المغنسيوم ، ويقوم بتحليل الفوسفات العضوى .
* الهكسوكاينيز Hexokinase ، الذى ينشط فى وجود أيون المغنسيوم ، ويقوم بعملية الفسفرة .

ويلاحظ فى حالة الانزيمات غير النشطة ، بأن قوة الارتباط الموجودة على سطح بروتين الانزيم غير النشط ، تكون غير كافية لربط الانزيم بمادة التفاعل ، ولكن فى وجود أيونات المعدن وادمصاصها على سطح بروتين الانزيم فى أماكن معينة ، فإنها تعطى للإنزيم التركيب المناسب لإحداث الارتباط ، بينه وبين سطح جزيئات مادة التفاعل ، وبذلك يتم التفاعل.

الإنزيمات المتماثلة ، الإنزيمات المتشابهة : Isoenzymes, Isozymes

يوجد فى الخلية الواحدة ، أو النسيج الواحد ، عدد كبير من الإنزيمات ، لها نفس الوزن الجزيئى ، ونفس التركيب البروتينى ، ولكنها ذات أشكال بنائية مختلفة ، وتسمى هذه الانزيمات بالانزيمات المتماثلة Isozymes .

والانزيمات المتماثلة لها نفس التخصص بالنسبة لمادة التفاعل ، ولكنها تسلك فى التفاعل ، طرقاً مختلفة عن بعضها البعض الى حد ما ، حسب إختلاف الشكل البنائى لصميم الانزيم .

ويفسر وجود الانزيمات المتماثلة بالخلية ، الكثير من التفاعلات المتباينة ، التى تحدث فى التفاعلات الانزيمية ، وفى التفاعلات المناعية .

موقع الانزيمات بخلية البكتريا : Location of enzymes in bacterial cell

تحتاج الخلية البكتيرية لكى تنمو وتتكاثر لعدد كبير من الانزيمات ، يصل لعشرات الآلاف لكى تقوم بكل إحتياجاتها ، ولكن نظرا لصغر حجم الخلية البكتيرية ، فإن هذه الانزيمات لاتوجد كلها بالخلية فى وقت واحد ، لأن كثيراً منها مستحث ، ينتج حسب الحاجة .

وفى المتوسط ، فإن عدد الانزيمات الموجود بالخلية البكتيرية فى وقت ما، يصل لحوالى الألف، وتوجد أغلب الانزيمات فى حالة حرة ، فى وعاء الخلية Cell matrix الغروى .

وقد أمكن التعرف على مواقع الإنزيمات بالخلية البكتيرية ، بعد تكسير الخلية ، وفصل أجزائها المختلفة بالطرد المركزى الفائق السرعة ، ودراسة الأجزاء المفصولة بيوكيميائيا .

وبالنسبة للبكتريا ، فقد وجد أن تركيبات الخلية الخارجية ، الكابسول والأسواط ، ليس لها نشاط بيوكيميائى ، لدرجة أن فقد هذه الأجزاء ، لايؤثر على عمليات أيض الخلية الحيوية ، كما لم يتضح حتى الان وجود نشاط إنزيمى بجدار خلية البكتريا .

أما بروتوبلاست خلية البكتريا ، أى الغشاء السيتوبلازمى ، والسيتوبلازم والنواة ، فيمتاز بمحتواه الانزيمى العالى ، ونشاطه الحيوى المرتفع . فيحتوى الغشاء السيتوبلازمى للبكتريا على العديد من الأنواع الإنزيمية ، منها إنزيمات التنفس والطاقة ، وإنزيمات الايض الغذائى ، وإنزيمات التمثيل الضوئى فى البكتريا الممثلة للضوء ، كما يحتوى الغشاء على الناقلات Permeases* وفى الميكروبات حقيقية النواة ، توجد إنزيمات الطاقة بالميتوكوندريا .

ويحتوى السيتوبلازم البكتيرى ومحتوياته الذائبة ، والحبيبات الدقيقة الموجودة به مثل الميسوسوم والرايبوسومات ، على كثير من إنزيمات الهدم والبناء ، ويوجد بالنواة انزيمات التضاعف والاستنساخ .

---

* الناقلات : مواد بروتينية متخصصة ، تساعد على نقل الجزيئات من وإلى الخلية خلال الغشاء السيتوبلازمى للخلية .

راجع الغشاء السيتوبلازمى ، الناقلات – الباب الخامس ، الفصل الثانى ، ص ٢١٧.

مراكز تنظيم ، ومراكز نشاط الانزيم : Regulatory and Active sites of enzyme

لاتخضع كل إنزيمات الخلية الميكروبية لنظم التنظيم الانزيمى ، ولكن الذى يخضع للتنظيم ، هو عدد من هذه الإنزيمات ، وهى الانزيمات التى تتحكم فى مسار الأيض الغذائى ، وتسمى هذه الانزيمات ، بالانزيمات المنظمة Regulatory enzymes أو تسمى بالانزيمات الالوستيرية Allosteric .

ففى كل نظام انزيمى ، أى لكل مجموعة من الانزيمات التى تعمل متناسقة معاً لإتمام أيض غذائى معين ، يوجد على الأقل إنزيم واحد يخضع للتنظيم ، وعن طريق هذا الانزيم تنظم مسار سلسلة التفاعلات الخاصة بالنظام المطلوب ، سواء بتنشيط التفاعل أو بتثبيطه ، وذلك بإتحاد مراكز نشاط الإنزيم المنظم بمواد التفاعل المنشطة أو المثبطة .

مراكز النشاط : Active sites

يوجد على سطح الانزيم العادى أو المنظم ، مناطق بروتينية محددة ، تسمى مراكز النشاط Active sites ، وهذه المراكز ، لها قابلية كبيرة للاتحاد بسطح مادة التفاعل المتخصصة [شكل ٩ (١) - ١ أ] .

ويمثل مركز النشاط ، مساحة صغيرة على سطح الانزيم ، ذات عدد محدود من الأحماض الأمينية ، قد يكون أقل من خمسة ، هى المسئولة عن التخصص والتفاعل ، وهذا يعنى أن الجزء الأكبر من سطح الانزيم البروتينى ، لايشارك فى تخصص أو تفاعلات الانزيم .

ولأغلب الإنزيمات الداخلية Intracellular enzymes التى بالخلية الميكروبية ، أكثر من مركز نشاط . مثالا على ذلك ، فإن لجزىء إنزيم Lactic dehydrogenase أربع مراكز نشاط بالجزىء ، بينما نجد أن أغلب الإنزيمات التى تفرز خارج الخلية Exracellular enzymes ، لها مركز نشاط واحد .

وكما يعمل الانزيم ، عن طريق مراكز نشاطه ، على تجزئة وتحليل Degradation المادة العضوية المعقدة ، إلى جزيئات أصغر ، فى عمليات الهدم لإنتاج الطاقة مثلاً ، فإن الانزيم يعمل أيضا ، على بناء مواد معقدة من مواد بسيطة ، بالربط مثلاً بين جزيئين مختلفين بعد إتحادهما بسطحه ، مكوناً منهما مادة جديدة ... وهكذا .



شكل ٩ (١) - ١ أ :
مراكز نشاط ثلاثية بالسابتيلين Subtilin

المراكز الألوستيرية : Allosteric sites

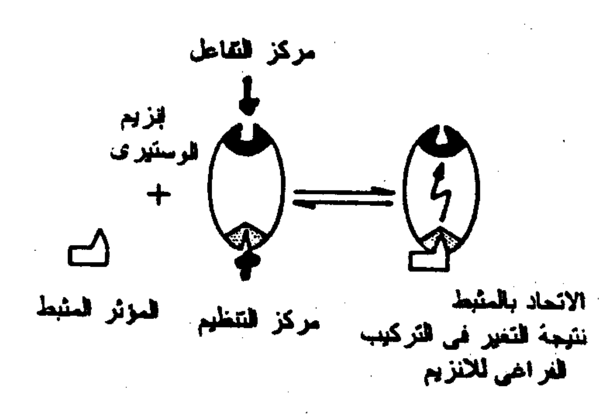
تقوم الإنزيمات الالوستيرية بتنظيم نشاط الإنزيمات ، بأن تعمل على تنشيط التفاعل أو تثبيطه ، حسب حاجة الخلية لذلك . إذ تتأثر الإنزيمات المنظمة ببعض مواد الأيض الغذائي ، التى تسمى بالمؤثرات Effectors, Modulators ، وهذه المؤثرات قد تكون منشطة للانزيم حيث تزيد من قابلية الانزيم لمادة التفاعل ، فيزداد نشاطه ، أو تكون تلك المؤثرات مثبطة للإنزيم ، فيحدث العكس .

وهنا يلاحظ أن الإنزيمات الألوستيرية تمتاز عن الإنزيمات العادية ، بأن بها نوعين من مراكز النشاط

- مراكز نشاط خاصة بتفاعلات الانزيم ، Catalytic sites ، متخصصة للإتحاد بمواد التفاعل Substrates وإسراع التفاعل .
- ومراكز نشاطُ أخرى خاصة بتنظيم عمل الانزيم Allosteric sites ، متخصصة للإتحاد بالمؤثرات Effectors ، وهى المنشطات أو المثبطات ، المنظمة للنشاط الانزيمى ، أى أن هذه المراكز خاصة بتنظيم عمل الانزيم ، من حيث تنشيط أو تثبيط التفاعل الذى يجريه (أنظر تنظيم نشاط الإنزيمات وتنظيم تخليقها ، بالفصل الثانى من هذا الباب) .

تختلف مراكز التفاعل عن مراكز التنظيم ، فى أن لكل نوع من هذه المراكز تركيبه الخاص ، المختلف عن النوع الأخر ، وأن لكل نوع أيضا مواقعه الخاصة على سطح الإنزيم . ولهذا السبب ، سميت الانزيمات المنظمة بالإنزيمات الألوستيرية ، لأن مراكز النشاط مع مادة التفاعل تختلف عن مراكز النشاط مع المؤثرات [شكل ٩ (١) - ١ ب] .

وتحتوى الإنزيمات الألوستيرية ، على أثنين أو أكثر من مراكز النشاط ، أحدهما على الأقل متخصص لمادة التفاعل ، والباقى متخصص للمؤثرات . والانزيمات الألوستيريه ، عادة أكبر حجما ، وأكثر تعقيدا فى التركيب من الإنزيمات العادية .



شكل ٩ (١) -١ ب : شكل تخطيطى للإنزيم الالوستيرى ، ومراكز نشاطه (التفاعل والتنظيم) .

إفراز الإنزيمات : Excretion of enzymes

يوجد بالخلية الميكروبية الواحدة ، المئات أو الالاف من الإنزيمات ، ويُنتج النوع الواحد من البكتريا ، أنواعاً معينة من الإنزيمات الخاصة به ، والمميزة له عن نوع بكتيرى أخر ، وكذلك تختلف كمية الانزيمات التى تحتويها الخلية من نوع بكتيرى لآخر . ويحدد ذلك الخواص الوراثية للبكتريا ، والظروف البيئية المحيطة بها ، وهذا يعنى ، أنه فى أية لحظة ، فإن محتوى الخلية الانزيمى ، يعبر عن الصورة التى تساير بها الخلية الوسط المحيط بها ، ومدى تلاؤمها معه .

وتقسم الإنزيمات الميكروبية ، على أساس إفرازها ، فى وجود أو غياب مادة التفاعل ، الى

١ – إنزيمات بنائية : Constitutive enzymes

تنتج الخلية الميكروبية الانزيمات البنائية بصفة دائمة ، سواء وجدت مادة التفاعل بالبيئة أم لم توجد ، ومثالا لهذه الإنزيمات ، إنزيمات التنفس الخلوية .

وتوجد الإنزيمات البنائية بالخلية بكميات ثابتة ، بصرف النظر عن ظروف الوسط المحيط بها ، ويتحكم فى تخليق هذه الإنزيمات ، التراكيب الوراثية للخلية .

٢ – إنزيمات مُستَحثّة : Adaptive, Inducible enzymes

تنتج الخلية الميكروبية الإنزيمات المستحثة عندما تحتاجها ، وذلك استجابة لوجود مادة محثة Inducer بالوسط ، تحث الخلية الميكروبية على تخليق الإنزيم المعنى . وكانت هذه الإنزيمات تسمى سابقاً بالإنزيمات المتلائمة Adaptive .

ومثالاً لهذه الانزيمات ، إنزيم بيتا جالاكتوسيديز β-galactosidase (lactase) ، الذى تفرزه بكتريا *Escherichia coli* والذى يحث على تكوينه وجود سكر اللاكتوز بوسط النمو ، بينما لاتفرزه بكتريا أخرى تابعة لنفس فصيلة بكتريا الكولاى ، وهى بكتريا السالمونيلا حتى فى وجود سكر اللاكتوز ، وأيضا مثل إنزيم البنسلينيز Penicillinase الذى تفرزه بكتريا *B. cereus* فى وجود البنسلين .

تنتج كثير من الإنزيمات البكتيرية بطريقة الحث ، أى عند حاجة البكتريا إليها ، وذلك توفيرا للطاقة وللمكان الخلوى ، الذى كانت ستحتاجه مجموعة الإنزيمات الكلية المطلوبة طوال حياة الخلية ، فصغر حجم الخلية ، قد لايسع كل إنزيماتها فى وقت واحد .

وعند وضع الميكروب فى البيئة التى بها المادة التى تحث على تكوين الإنزيم ، فانه تمضى فترة تسمى بفترة الحث Induction period ، تختلف فى طول مدتها حسب ظروف الميكروب والبيئة . ويبدأ بعد إنقضاء هذه الفترة ، إفراز الانزيم المستحث .

وفترة الحث ضرورية فى حياة الميكروب ، حتى يتمكن خلالها من تخليق البروتينات والمكونات اللازمة لانتاج الإنزيم المستحث ، وقد تعود فترة الركود المميزة للطور اللاجى Lag phase ، فى منحنى النمو البكتيرى ، إلى فترة الحث الانزيمى ، التى تحدث فى البيئة الجديدة المنقول إليها الميكروب .

ويتحكم فى إنتاج الإنزيمات المستحثة ، أربعة عوامل هى

* التركيب الوراثى لسلالة البكتريا .
* وجود مادة التفاعل المحثة على تكوين الانزيم .
* توفر الأحماض الأمينية اللازمة لتكوين بروتين الانزيم .
* وجود مصدر الطاقة الملائم لتخليق الانزيم .

أحيانا يكون لوجود بعض المواد الأخرى ، غير مادة التفاعل ، تـأثير علـى تكويـن الانزيم المستحث ، فمثلاً قد يكون لوجود الجلوكوز بالبيئة ، تأثير على تكوين الإنزيمات المحللـة للبروتينات ، فقد لوحظ أن وجود الجلوكوز بكمية كبيرة بالبيئة يقلل من إنتاج الإنزيم المسـتحث Alanine deaminase ، وذلك نتيجة لتخمر الجلوكوز وتكون أحماض بكميات كبيرة تخفض من قيمة ق يد البيئة ، مما يؤثر على انتاج الخلية الميكروبية للانزيم المستحث .

ويمكن تلخيص تأثير وجود أمثال هذه المواد بوسط النمو ، على تكويـن الإنزيمـات الميكروبية المستحثة ، الى

* تكوين أحماض ، مما يؤدى الى حدوث تغيير فى قيمة ق يد (pH) البيئة .
* تكوين غازات ، تحدث ظروفاً لاهوائية بالبيئة .
* زيادة محصول الخلايا المتكونة بالبيئة .
* المساعدة فى تكوين مركبات عديدات التسكر داخل الخلايا النامية .

٣ - إضافة إلى الإنزيمات البنائية والإنزيمات المستحثة التى ذكرت سابقا ، فإنه يوجد بالخلايـا الميكروبية ، مايسمى **بالإنزيمات التعويضية Anaplerotic enzymes** .

وهذه الانزيمات تخلقها الخلية البكتيرية حين الحاجة ، لتقوم بتفاعلات إحـلال لبعـض مواد الأيض ، وذلك للمحافظة على المستوى الملائم من مواد الايض الوسطية اللازمة لإتمـام الدورات الغذائية ، مثل إنزيم Malate synthase ، الذى يكثف حامض الجليوكسيليك مع اسيتايل CoA ، لتكوين حامض الماليك ، لتعويض مانقص من حامض الماليك فى دورة كربس .

تقسيم الإنزيمات الميكروبية على اساس إفرازها داخل أو خارج الخلايا

الانزيمات الداخلية والخارجية

تتكون جميع الإنزيمات بداخل الخلية الميكروبية ، وعقـب الإفـراز ، يبقـى بعـض الإنزيمات بداخل الخلية ، وتسمى هـذه ، بالإنزيمـات الداخليـة Intracellular enzymes أو Desomoenzymes . وهذه الإنزيمات الداخلية وثيقة الالتصاق بالخلية ، ولايمكن اسـتخلاصها منها إلا بتكسير الخلية بصورة كاملة ، وخروج محتوياتها .

وبعض الإنزيمات بعد تكونها بداخل الخلية الميكروبية ، فإنها تخرج من الخلية ، إلى الوسط الخارجى ، وتسمى بإنزيمات خارجية Extracellular enzymnes ، وهى إنزيمات تقوم بنشاطها الحيوى خارج الخلايا .

تقوم الإنزيمات الداخلية ، بإجراء عمليات الأيض الغذائى المختلفة ، لتخليق مايلزم للخلية من مكونات خلوية ، وتوفير الطاقة اللازمة لمتطلباتها الحيوية ، ومن أمثلة الإنزيمات الداخلية إنزيم هكسوكاينيز Hexokinase ، الذى يقوم بفسفرة السكريات السداسية ، كالجلوكوز ، بداخل الخلية ، وكذلك إنزيمات التنفس وانتاج الطاقة .

أما الإنزيمات الخارجية ، فإنها من النوع المحلل مائيا ، وعملها الأساسى هو تحليل المواد الغذائية المعقدة الموجودة بالوسط الخارجى للخلية ، ليسهل بعد ذلك نفاذ تلك المواد المتحللة إلى داخل الخلية وتمثيلها .

ومن أمثلة الإنزيمات الخارجية ، الانزيمات المحللة للنشا والبروتين والسليلوز ، ففى حالة النشا مثلا يقوم إنزيم الأمايليز بتحليل جزيئات النشا الكبيرة الحجم ، الى وحدات صغيرة هى سكر الجلوكوز ، وهى وحدات قادرة على النفاذ الى داخل الخلية ، حيث يجرى تمثيلها بالانزيمات الداخلية .

وتقسم الإنزيمات بالنسبة لتأثيرها على جزىء مادة التفاعل إلى

إنزيمات داخلية التأثير Endoenzymes ، وأخرى خارجية التأثير Exoenzymes .

الإنزيمات داخلية التأثير ، تؤثر على جزىء مادة التفاعل من داخل الجزىء نفسه ، وليس من أطرافه ، فتحلل الجزىء الكبير إلى وحدات أصغر ، مثل إنزيم ألفا أمايليز α-amylase, Endo α-1-4 glucan glucano hydrolase ، الذى يؤثر على جزىء النشا من الداخل ، فيحلله إلى وحدات أصغر ، هى الدكسترين .

أما الإنزيمات خارجية التأثير ، فإنها تؤثر على جزىء مادة التفاعل من أطرافه الخارجية ، فتحلله إلى وحدات أصغر ، مثل إنزيم β-amylase, Exo α 1-4 glucan glucano hydrolase الذى يحلل جزىء الدكسترين من أطرافه الى مالتوز ، وهو سكر ثنائى يتكون من ٢ جزىء جلوكوز ، وكذلك إنزيم جاما أمايليز ɣ-amylase, ɣ 1-4 glucan gluco hydrolase الذى يفصل جزىء واحد ، هو الجلوكوز ، من طرف جزىء النشا .

كما تقسم الانزيمات على أساس أنواع التفاعلات التى تجريها ، ويمكن للرجوع لذلك فى الجزء من هذا الفصل ، الخاص بتسمية وتقسيم الانزيمات ، ص ٦٥٤ ومايليها .

تخصص الانزيمات : Specificity of enzymes

تمتاز الإنزيمات ، كما سبق القول ، بتخصصاتها العالية لمادة التفاعل ، فقد يعمل الإنزيم على مادة واحدة ، وفى بعض الحالات يعمل على مجموعة كيميائية معينة ، لمواد متشابهة كيميائيا .

يعود تخصص الانزيم لمادة التفاعل ، الى الجزء البروتينى من الانزيم المسمى صميم الانزيم ، ويتوقف التخصص على الخواص الفيزيوكيميائية التى تشكل سطح الانزيم Physico-chemical configuration of the surface ، وهذا يحدده نظام الأحماض الأمينية الموجودة بالسلسلة الببتيدية المكونة للبروتين ، من حيث أنواع الأحماض الأمينية ، ونظام تتابعها بالسلسلة ، وعدد السلاسل ، ونظام التفافها (مستقيمة ، حلزونية ، ملتفة ، فى طبقات ...) * .

ويتم الارتباط بين الانزيم ومادة التفاعل ، عن طريق الأنيونات والكاتيونات ، مثل COOH, NH_2, S, H ... الخ ، ويزيد من قوة الارتباط قوى الجذب السطحى والقوى الالكتروستاتيكية بين السطوح .

تتحد المراكز النشطة Active sites للانزيم مع مادة التفاعل ، ويتم الاتحاد بين سطوح كل منهما ، اذا كانت علاقة سطح كل من مراكز الانزيم ومادة التفاعل متوافقة ، أى يكمل كل منهما الأخر ، فيما وصفه العالم الألمانى Emil Fischer عام ١٨٩٤ بأنها علاقة تشبه علاقة القفل والمفتاح Lock and Key ، بمعنى ، أنه يجب أن يتوافق سطح كل من مراكز الإنزيم وسطح مادة التفاعل ، حتى يحدث الاتحاد بينهما ، ويتم التفاعل [شكل ٩ (١) - ٢] .

وبعد أن يتم التفاعل ، تفقد نواتج التفاعل قابليتها للإتحاد بسطح الانزيم ، فتنفصل عن الانزيم ، الذى يرتبط ثانية بجزيئات أخرى من مادة التفاعل ، وتمثل هذه التفاعلات بالآتى :

مرافق انزيم + صميم انزيم ⟵ انزيم كامل

انزيم كامل + مادة التفاعل ⟵ مركب وسطى (إنزيم - مادة التفاعل)

مركب (انزيم - مادة التفاعل) ⟵ النواتج النهائية + الانزيم

Enzyme + Substrate ⇌ Enzyme – substrae complex, ⇌ Product, + Enzyme

E S ES P E

شكل ٩ (١) - ٢ :
رسم تخطيطى يوضح التوافق بين سطح كل من مركز نشاط الانزيم وسطح مادة التفاعل

* أنظر أشكال البروتين التركيبية ص ٧٠٦ .

أنواع التخصص بالإنزيمات : Types of specificity

من أنواع التخصص بالإنزيمات ، مايلى

١ - تخصص مطلق : Absolute specificity

الإنزيمات التابعة لهذه المجموعة ، متخصصة تخصصا مطلقاً ، بمعنى أن الانزيم متخصص فى تفاعله لمادة واحدة فقط ، مثل إنزيم اليورييز ، الذى يقوم بتحليل اليوريا فقط ، الى أمونيا وثانى أكسيد الكربون .

$$\underset{\text{Urea}}{NH_2\text{-}CO\text{-}NH_2 + H_2O} \xrightarrow{\text{Urease}} \underset{\text{ammonium carbamate}}{NH_2\text{-}COO\text{-}NH_4} \longrightarrow 2NH_3 + CO_2$$

٢ - تخصص لمجموعة معينة : Group specificity

وفى هذه الحالة ، فإن تخصص الانزيم ، يكون أوسع من التخصص المطلق (السابق)، إذ تكون الإنزيمات متخصصة للتفاعل مع مجموعة معينة ، فى مركبات متشابهة ، مثل انزيمات اللاييبز التى تحلل الدهون ، ولكنها لاتحلل البروتينات .

٣- تخصص لنوع الرابطة الكيميائية : Chemical bonding specificity

أو تخصص بالنسبة للوضع الفراغي للمركب Stereochemical specificity

تخصص الانزيم هنا ، يكون بالنسبة لنوع الرابطة الكيميائية التى بالمركب ، فمثلاً ، إنزيم α 1-4-glucosidase متخصص لتحليل المواد التى بها روابط جليكوزيدية من نوع ألفا ، كالمالتوز ، ولكنه لايؤثر على الروابط الجليكوزيدية التى من نوع بيتا ، مثل السللوبيوز .

وكذلك ، فإن إنزيم Lysine decarboxylase ينزع مجموعة الكربوكسيل بالحامض الأمينى (اليسارى Levo) لـ - لايسين ، ولايمكنه مهاجمة المشابه الآخر (اليمينى ، Dextro) د - لايسين ، حيث أن الحامض الأول اليسارى التشابه ، يسهل ارتباطه بالبروتين الانزيمى .

وكذلك إنزيم L-amino acid oxidase ، الذى يهاجم الحامض الأمينى اليسارى التشابه -L ، ولايحلل اليمينى التشابه -D .

$$\text{L-amino acids} \xrightarrow[\text{L-amino acid oxidase}]{O_2} \alpha\text{-keto acid} + NH_3 + H_2O_2$$

٤ - تخصص نسبى من حيث الكفاءة : Relative specificity

فى هذا التخصص ، نجد أن الانزيم قادر على تحليل مواد بها أكثر من رابطة ، ولكنه يكون أكثر كفاءة فى تحليل نوع معين من الروابط ، عن روابط أخرى ، مثل انزيم β-glucosidase ، الذى يحلل المركبات التى بها الرابطة من نوع بيتا ، أسرع من تلك المحتوية على روابط جليكوزيدية من نوع ألفا .

تسمية وتقسيم الإنزيمات : Naming and classification of enzymes

تسمية الانزيمات

فى بداية إكتشاف الانزيمات ، كان يعطى لكل إنزيم يتم التعرف عليه ، إسما دون نظام معين مثل : ببسين المعدة Pepsin الذى يحلل البروتينات عند ق يد أمثل حوالى ٢,٠، وتربسين الأمعاء Trypsin ، الذى يحلل البروتينات عند ق يد أمثل حوالى ٨,٥ ، والتيالين Ptyalin باللعاب ، الذى يحول النشا الى السكر الثنائى المالتوز ، ورينين المنفحة Renin ، الذى يحول كازين اللبن الى بارا كازين .

ثم تطور نظام التسمية ، بإضافة المقطع ... يز ، ase... الى نهاية اسم مادة التفاعل التى يؤثر عليها الانزيم ، مثل انزيم السكريز Sucrase الذى يحلل السكروز ، والمالتيز الذى يحلل المالتوز ... الخ .

أو إضافة المقطع السابق ... يز ، ase... الى الكلمة التى تعبر عن نشاط الانزيم ، مثل Hydrolase ، التى تعنى الانزيمات المحللة مائيا .

وبذلك أصبح للإنزيم أسما دارجا يعرف به ، وينتهى الاسم بالمقطع ... ase .

وفى عام ١٩٦١ ، وضع الاتحاد العالمى للكيمياء الحيوية (لجنة الانزيمات) ، International Union of Biochemistry, Enzymes Commission, 1961 ، الأسس الحديثة الخاصة بنظم تقسيم ، وتسمية الانزيمات .

وتعتمد هذه النظم على قواعد محددة ، اساسها تقسيم الانزيمات حسب التفاعلات التى تجريها الى ستة أقسام رئيسية ، كل قسم يضم الانزيمات المتشابهة فى نوع التفاعل الكيميائى الذى تجريه ، مثل مجموعة انزيمات الأكسدة والاختزال ، ومجموعة الانزيمات الناقلة للمجاميع الكيميائية ... وهكذا [جدول ٩ (١) - ٢] .

جدول ٩ (١) - ٢ : الأقسام الرئيسية الستة للإنزيمات (مقسمة على أساس نوع التفاعل الكيميائى الذى تجريه الانزيمات) .

رقم القسم	القسم	نوع التفاعل
١	إنزيمات الأكسدة والاختزال Oxido-reductases	نقل الالكترونات نقل ذرات الايدروجين
٢	أنزيمات ناقلة لمجاميع كيميائية Transferases	نقل مجموعات كيميائية عامة ، مثل مجموعة الفوسفات ، الأمين ، الميثايل ، الأسيتايل ... الخ
٣	إنزيمات محللة مائيا Hydrolases	تحليل مائى للمادة كسر رابطة كيميائية عن طريق إضافة جزىء ماء (OH, H)
٤	انزيمات إضافة وإزالة Lyases	• إضافة أو إزالة مجموعات كيميائية دون تحلل مائى • إضافة (أو كسر) رابطة زوجية فى مركب
٥	إنزيمات المشابهات Isomerases	تحويل المركب الى المركب المشابه ، أى الى مركب به نفس الذرات ، ولكن فى تركيب بنائى مختلف
٦	إنزيمات الربط Ligases	تكوين روابط بين جزيئين ، مع إزالة أو كسر لجزىء ATP

ثم قسم كل قسم من الأقسام الستة الى تحت أقسام ، حسب المجموعة المتفاعلة فى مادة التفاعل ، وقسمت المجاميع المتفاعلة الى تحت مجاميع ... وهكذا يستمر التدرج فى التقسيم ، حتى نصل الى الانزيم ، وأخيراً يعطى لكل انزيم رقماً .
بمعنى أنه أصبح للانزيم أسما حسب النظام العلمى التصنيفى ، وأيضا رقما حسب نظام الترقيم التقسيمى .

وبذلك أصبح لكل إنزيم الآن ، اسمان ، ورقم

* الاسم القديم ، الدارج Trivial name ، ومازال هو الاسم المستعمل ، لأنه أسهل ، وأبسط ، وأقصر .
* الاسم الحديث ، العلمى التصنيفى Systematic name ، وهو اسم طويل يحدد نوع التفاعل والمجاميع المتفاعلة ، ومواد التفاعل ... الخ ، وذلك طبقاً للنظم التى اتفق عليها .
* الرقم التقسيمى المميز للإنزيم Identifying classification number ، وهو موضوع طبقاً لنظم الترقيم والتقسيم المتفق عليها من لجنة الانزيمات Enzymes Commission, EC ، السابق الاشارة اليها .

ويلاحظ أن الرقم التقسيمى للإنزيم يتكون من عدة أرقام ، عددها أربعة على الأقل ، يفصل بين كل رقم وآخر نقطة ، وكل رقم منها يعبر عن شيء معين . والمثال التالى الخاص بإنزيم **Alcohol dehydrogenase** ، يوضح ذلك .
يقوم هذا الانزيم بالتفاعل التالى :

$$CH_3CH_2OH \xrightarrow[NAD]{Enzyme} CH_3CHO + NADH + H^+$$

الاسم الدارج للانزيم	Alcohol dehydrogenase
الاسم العلمى التصنيفى	Alcohol NAD-oxido-reductase
الرقم التقسيمى	EC. 1. 1. 1. 1

وواضح من الأسم التصنيفى ، أن نوع تفاعل الإنزيم ، يتبع مجموعة الأكسدة والاختزال ، وأن مادة التفاعل هى الكحول ، وأن المجموعة المتفاعلة هى ذرات الأيدروجين ، عن طريق الـ NAD.

وتعنى مفردات الرقم التقسيمى EC. 1. 1. 1. 1 ، من اليسار الى اليمين ، أن

* EC : تدل على أن الرقم التقسيمى للإنزيم يتبع نظام تقسيم لجنة الانزيمات .
* الرقم الأول: يدل على القسم التابع له الانزيم ، من أقسام الانزيمات الستة الرئيسية .
  ويعنى رقم (١) ، أن الانزيم يتبع القسم الأول من هذه الأقسام الستة ، وهو قسم إنزيمات الأكسدة والاختزال Oxido-reductases .
* الرقم الثانى : يدل على مادة التفاعل التى يعمل عليها الانزيم ، وهى ذرات الايدروجين التى بالكحول
* الرقم الثالث : يدل على المجموعة المتفاعلة بالانزيم الكامل
  ويعنى رقم (١) ، أن النظم الناقل لذرات الايدروجين هو الناد NAD .
* الرقم الرابع : (وقد يكون أكثر من رقم فى بعض الانزيمات)
  يدل الرقم على أولوية الانزيمات المكتشفة (بهذا القسم) ، والمصدر الذى تم عزل الانزيم منه

وبجدولى [٩ (١) - ٣ و٤] بعض أمثلة توضح الاسم الدارج والاسم التصنيفى ، والرقم التقسيمى لبعض الإنزيمات ، حسب نظام جمعية الإنزيمات .

جدول ٩ (١) - ٣ : الاسم الدارج ، والاسم التصنيفى ، لانزيمات تمثل الستة أقسام الرئيسية التى بجدول [٩ (١) - ٢] .

رقم القسم Class No.	الاسم التصنيفى Systematic name	الاسم الدارج Trivial name
1	Malate-NAD-oxidoreductase	Malic dehydrogenase
2	ATP-hexose-phosphotransferase	Hexose kinase
3	Glycerol ester hydrolase	Lipase
4	Ketose-I-phosphate-aldehyde lyase	Aldolase
5	L-β-hydroxy acid racemase	Alanine racemase
6	Acetate-CoA-SH-ligase	Acetic thio kinase

جدول ٩ (١) - ٤ : الاسم الدارج ، والاسم التصنيفى ، والرقم التقسيمى لبعض الانزيمات ، حسب نظام لجنة الانزيمات .

الرقم التقسيمى	الاسم التصنيفى	الاسم الدارج
EC. I.I.I.I.	Alcohol-NAD-oxido-reductase	Alcohol dehydrogenase
EC. 3.2.1.4	Endo-β-1-4-glucanase	C1 Enzyme
EC. 3.2.1.9.1	Exo-β-1-4-glucanase	Cx Enzyme
EC. 3.2.1.21	β-1-4-glucosidase	Cellobiase
EC. 1.1.1.6	Glycerol-NAD-2- oxido-reductase	Glycerol dehydrogenase
EC. 3.1.1.3	Succinyl CoA: Oxalate CoA-transferase	Triacylglycerol lipase

وفيما يلى ، بيان بأقسام الانزيمات الستة الرئيسية المبينة بجدول [٩ (١) - ٢] ، مع بعض أمثلة لما تجريه تلك الانزيمات من تفاعلات .

أقسام الإنزيمات

القسم الأول : إنزيمات الأكسدة والاختزال : Oxido-reductases

ومن أمثلتها

١ - إنزيمات الأكسدة Oxidases

تجرى هذه الإنزيمات تفاعلاتها فى وجود الأكسجين الجوى ، كمستقبل للايدروجين ، مع تكوين ماء. وتحتوى هذه الانزيمات على معادن ، أى أنها إنزيمات معدنة Metallo-enzymes ، وتعمل تحت ظروف هوائية

$$2H_2O_2 \xrightarrow[(+O_2)]{\text{Catalase}} 2H_2O + O_2$$

$$\text{Cytochrome c-H} \xrightarrow[(+O_2)]{\text{Cytochrome oxidase}} \text{Cytochrome-c} + H_2O$$

٢- إنزيمات الإختزال Dehydrogenases

تجرى هذه الانزيمات تفاعلاتها بنزع ذرات الأيدروجين ، ونقلها لمستقبل آخر ، وهى انزيمات غير قادرة على نقل ذرات الايدروجين مباشرة لأكسجين الهواء الجوى

* منها ماهو مرتبط بمرافق الإنزيم I ، الناد NAD (DPN or CoI)
* ومنها ماهو مرتبط بمرافق الإنزيم II ، الناد بى NADP (TPN or CoII)

$$\text{Lactic acid} \xrightarrow[\text{NAD}]{\text{Lactic dehydrogenase}} \text{Pyruvic} + \text{NADH} + H^+$$

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CHOH \\ | \\ COOH \end{array} \qquad \begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CO \\ | \\ COOH \end{array} + \text{NAD H} + H^+$$

$$\begin{array}{l} COOH \\ | \\ CH\text{-}NH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \end{array} \xrightarrow[\text{NADP} + H_2O]{\text{Gluamic dehydrogenase}} \begin{array}{l} COOH \\ | \\ CO \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \end{array} + NH_3 + \text{NADPH} + H^+$$

Glutamic acid — α-keto glutaric

٣- إنزيمات ناقلة للألكترونات : **Electron transferases**

مثل السيتوكرومات ، التى تحتوى على مركب الهيم Heme ، الداخل فى تركيبـــه ذرة الحديد ، وهى الذرة المسئولة عن نقل الالكترونات ، أى المسئولة عن خـــواص الانزيــم فــى الأكسدة والاختزال .

$$\underset{\text{Ferric}}{\text{Cyt b} - Fe^{3+}} + e^{-} \rightleftharpoons \underset{\text{Ferrous}}{\text{Cyt b} - Fe^{2+}}$$

القسم الثانى : الإنزيمات الناقلة للمجاميع الكيميائية العامة Transferases

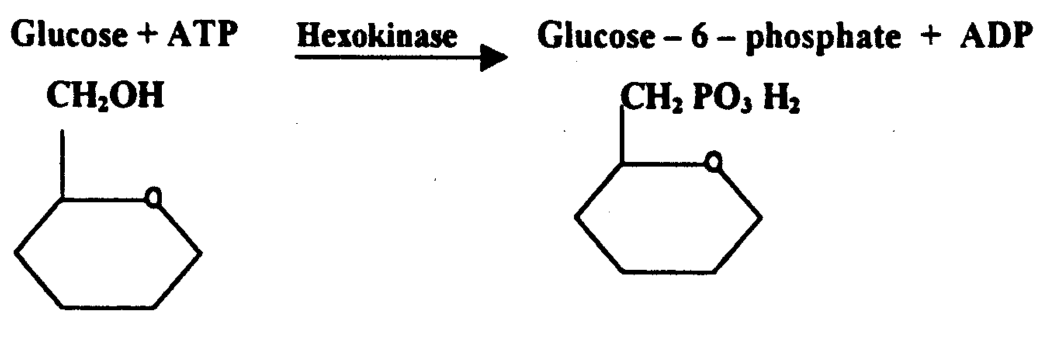
ومن أمثلتها

١ – **الإنزيمات الناقلة لمجموعة الأمين Transaminases**

$$\underset{\text{Acid}}{\text{Glutamic}} + \underset{\text{acid}}{\text{Oxalacetic}} \xrightarrow{\text{Transaminase}} \underset{\text{acid}}{\alpha\text{-keto glutaric}} + \underset{\text{acid}}{\text{aspartic}}$$

COOH		COOH		COOH		COOH
CH- (NH_2)		(CO)	Transaminase →	CO		CH-NH_2
CH_2	+	CH_2		CH_2	+	CH_2
CH_2		COOH		CH_2		COOH
COOH				COOH		

٢- **الإنزيمات الناقلة لمجموعة الفوسفات : Kinases (Transphosphorylases)**



٣- الإنزيمات الناقلة لمجموعة الأسايل : Transacylases

تقوم هذه الإنزيمات بنقل مجموعة الأسيتايل $R-CO-CH_3$ ، أو مجاميع الأسايل الأخرى acyl groups ، من جزىء الى آخر ، فى وجود قرين الانزيم CoA .

القسم الثالث : الإنزيمات المحللة مائيا : Hydrolases

تقوم هذه الإنزيمات بتكسير الروابط الكيميائية التى بمادة التفاعل ، بإضافـــة جــزىء ماء (H.OH) ، وبذلك تتحول مادة التفاعل الى جزئيات أبسط ، وذلك حسب المعادلة العامة

$$RO\text{-}R^1 \xrightarrow[H_2O\ (H\text{-}OH)]{\text{Hydrolases}} RO\text{-}H + R^1\text{-}OH$$

ومن أمثلة هذه الإنزيمات

١ - **الإنزيمات المحللة لعديدات التسكر كالنشا والسليلوز (كسر رابطة الجليكوزايد)** .

٢ - **الإنزيمات المحللة للسكريات البسيطة الثنائية** ، كالمالتوز بواسطة المالتيز ، والســـكروز بواسطة السكريز ، واللاكتوز بواسطة اللاكتيز **(كسر رابطة الجليكوزايد)**

$$\underset{C_{12}H_{22}O_{11}}{\text{Lactose} + H_2O} \xrightarrow{\text{Lactase}} \underset{C_6H_{12}O_6}{\text{Glucose}} + \underset{C_6H_{12}O_6}{\text{Galactose}}$$

٣- **الانزيمات المحللة للبروتينات (كسر رابطة الببتيد) (-CO-NH-)**

تقوم هذه الانزيمات بتحليل جزء البروتين مائيا ، الى وحدات أصغر فـــأصغر حتـــى يصل الى مرحلة الأحماض الأمينية

$$\text{Protein} + H_2O \xrightarrow{\text{Protinases}} \text{Proteose} \xrightarrow{\text{Proteases}} \text{Peptone} \xrightarrow{\text{Proteases}}$$

$$\text{Poly peptides} \xrightarrow{\text{Peptidases}} \text{Dipeptides} \xrightarrow{\text{Peptidases}} \text{Amino acids}$$

$$R\text{-}CH \begin{cases} NH_2 \\ COOH \end{cases}$$

٤ - **الانزيمات المحللة للدهون Lipases (كسر روابط الأستر)**

FAT +3H_2O	Lipase →	Glycerol +	Fatty acids
$CH_2O\text{-}OCR_1$		CH_2OH	$HOOC\text{-}R_1$
$CHO\text{-}OCR_2$		$CHOH$ +	$HOOC\text{-}R_2$
$CH_2O\text{-}OCR_3$		CH_2OH	$HOOC\text{-}R_3$

القسم الرابع : إنزيمات (اضافة وازالة) : Lyases

تقوم هذه الإنزيمات بإضافة أو إزالة مجاميع كيميائية بالمركب ، دون تحلل مائى ، وقد يتكون بالمركب روابط زوجية نتيجة إزالة مجموعة كيميائية ، أو كسر للرابطة الزوجية عند إضافة مجموعة كيميائية .

ومن أمثلتها

١ - الإنزيمات التى تنزع مجموعة (-COO) من مجموعة الكربوكسيل

Pyruvic acid —Decarboxlase / $-CO_2$→ **Acetaldehyde + CO_2**

CH_3
|
CO
|
COOH

CH_3
|
CHO + CO_2

٢- الانزيمات التى تنزع جزىء ماء مع تكوين رابطة زوجية

Malic acid —Fumarase / L-malate hydrolase→ **Fumaric acid**

-H_2O

COOH
|
CH_2
|
CHOH
|
COOH

COOH
|
CH + H_2O
‖
CH
|
COOH

٣ - الانزيمات التى تكسر المركب

Fructose 1,6-diphosphate —Aldolase→ **Dihydroxyacetone phosphate + 3-Glyceraldehyde phosphate**

HO—P(=O)(OH)—O—CH_2 ... $CH_2OPO_3H_2$

CH_2OH
|
CO
|
$CH_2OPO_3H_2$

+

CHO
|
CHOH
|
$CH_2OPO_3H_2$

٤- الانزيمات التى تضيف مجموعة -COO الى حامض عضوى لتكوين مجموعة كربوكسيل

Carboxylase

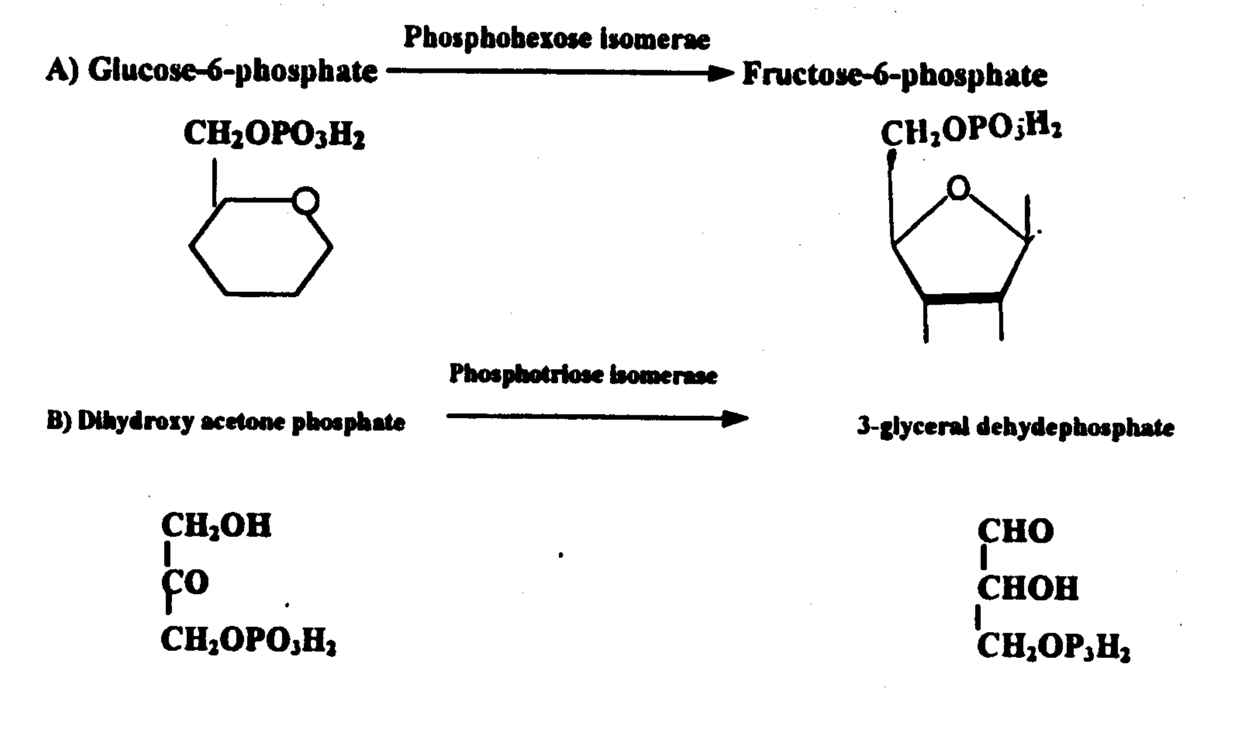
Pyruvic acid + CO_2 ⟶ Oxalacetic

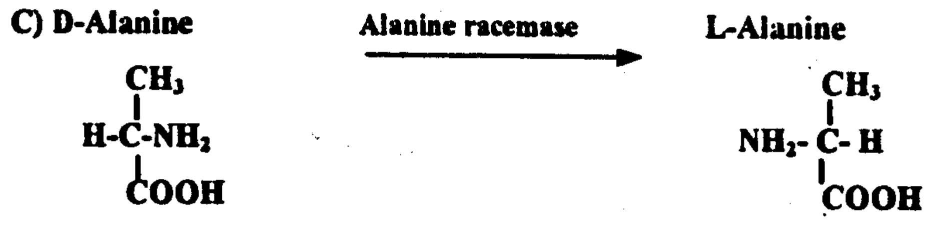
Pyruvic acid	Oxalacetic
CH_3	COOH
|	|
CO	CH_2
|	|
COOH	CO
	|
	COOH

القسم الخامس : انزيمات المشابهات : Isomerases

تقوم هذه الانزيمات بتحويل المركب ، الى المركب المشابه . بإعادة ترتيب وضع الذرات ، داخل الجزىء .

من أمثلتها





القسم السادس : إنزيمات الربط : Ligases

تقوم هذه الانزيمات بربط جزيئين ، ويصاحب ذلك كسر روابط البيروفوسفات فى جزىء ATP ، حسب المعادلة العامة

$$X + Y + ATP \underset{}{\overset{Ligase}{\rightleftharpoons}} X\text{-}Y + AMP + P\text{-}P$$

or

$$X + Y + ATP \underset{}{\overset{Ligase}{\rightleftharpoons}} X\text{-}Y + ADP + Pi$$ (P_i : فوسفات غير عضوى)

والتفاعل التالى ، مثال لتفاعلات الربط

$$Acetate + CoA - SH + ATP \underset{}{\overset{Acetate - CoA\text{-} SH\ Ligase}{\rightleftharpoons}} Acetyl\ CoA + AMP + P\text{-}P$$

الأسس العامة لتكون وانتاج الانزيمات الميكروبية

إن معظم الإنزيمات التجارية التى تستخدم فى الصناعة ، تنتج من المجاميع الميكروبية الممثلة فى الفطريات والخمائر والبكتريا . ويتم تحضير الانزيمات من تلك الأحياء بمراعاة الأسس التالية

١- إنتخاب السلالة الميكروبية

يعتبر إنتخاب الميكروب المناسب للإنتاج بمثابة الخطوة الأولى فى تصنيع أى إنزيم تجارى ، حيث يتم إجراء إنتخاب أولى لمئات الأنواع والسلالات ، التى لها القدرة على إنتاج الانزيم المرغوب بكميات وفيرة ، هذا مع مراعاة توفر بعض المواصفات التى يجب أن تنطبق على هذه الميكروبات مثل

أ - أن يكون الميكروب المستخدم غير ممرض .
ب - وليس له القدرة على إنتاج توكسينات .
جـ - وله درجة ثبات بيولوجى عالية .

ويتم الحصول على هذه العزلات من الطبيعة ، خاصة من الأماكن التى تكون غنية بمادة التفاعل المراد أن يعمل الانزيم عليها ، أو يتم الحصول على سلالات معرفة من مجمع للمزارع الميكروبية القياسية Standard cultures collection ، أو من مراكز تجميع الثروة الميكروبية Microbiological Resource Centers, MIRCENS الموجودة بكثير من الهيئات العلمية المحلية والعالمية * .

---

* فى مصر ، يوجد مركز تجميع الثروة الميكروبية ، فى كلية الزراعة جامعة عين شمس ، بشبرا الخيمة ، بالقاهرة .
وأنظر ص ٣٦٩ لمعرفة عناوين أخرى لبعض المؤسسات الخاصة بتجميع المزارع الميكروبية وحفظها .

وبعد الحصول على السلالات الميكروبية ، يتم عملية حصر مبدئى لها ، عن طريق زراعتها على بيئات صلبة تحتوى على مادة التفاعل ، ثم تنتخب المستعمرات التى تعطى أكبر كفاءة فى تحليل مادة التفاعل ، ثم تنقى هذه المزارع على بيئات ملائمة ، وتحفظ على درجات حرارة منخفضة لحين الإستخدام .

عوامل التطفر : Mutagenic agents, Mutagens

هناك بعض العوامل البيئية التى تعرف بعوامل التطفر ، وهذه العوامل تمكننا من الحصول على طفرات تختلف فى بعض صفاتها التخميرية عن صفات السلالة الأصلية التى نشأت منها . وكان أول من لاحظ ذلك هو العالم Massini عام ١٩٥٧ ، عندما تمكن من عزل طفرات من بكتريا *Escherichia coli* قادرة على تخمير سكر اللاكتوز (لاكتيز +) أى سلالات قادرة على إفراز إنزيم اللاكتيز وتحويل اللاكتوز، الى أحماض وغازات ، وذلك من سلالة أصلية غير قادرة على تحليل سكر اللاكتوز (لاكتيز -) أى سلالة غير قادرة على إفراز إنزيم اللاكتيز . فعندما أضاف ماسينى دليلاً الى بيئة التخمر ، يتغير لونه عند انتاج الحامض من سكر اللاكتوز ، فان لون مستعمرات بكتريا اللاكتيز+ ، تغير لونها من الأبيض إلى الأحمر ، بينما بقيت مستعمرات بكتريا اللاكتيز - ، بيضاء اللون .

عوامل التطفر * يمكن أن تزيد من معدل التطفر عن المعدل الطبيعى بما يقرب من ١٠ الى ١٠٠ ألف مرة ، وأكثر هذه العوامل التطفرية دراسة هى الأشعة فوق البنفسجية وأشعة اكس ، والخردل النتروجينى Nitrogen mustard . كما أن هناك عوامل كيميائية أخرى يمكنها أن تؤدى الى زيادة معدل التطفر مثل البيروكسيد Peroxide ، والمرق المعامل بفوق أكسيد الايدروجين ، والمواد المعروفة باسم المواد المسرطنة Carcenogenic substances مثل مركبات الأكريفلافين Acriflavin ، وبعض مشتقات البيورين Purines ، وبعض الأملاح المعدنية مثل كلوريد المنجنيز . وتقارن كفاءة الطفرات المتحصل عليها بجيل الأباء ، ويتم إنتخاب الطفرات الأعلى نشاطا وثباتاً .

ومع تقدم طرق التقنية الحيوية ، دخلت الهندسة الوراثية فى مجال تحسين السلالات ، وأصبح من الممكن إدخال جينات الى سلالات ميكروبية ، تحسن من كفاءتها ، أو تجعلها قادرة على إنتاج إنزيمات لم تكن الخلايا الأصلية قادرة على إنتاجها من قبل .

الإنزيمات المعزولة

فى بعض المنتجات الصناعية ، مثل انتاج الكحول من السكر بواسطة الخميرة ، أو إنتاج حامض الستريك بواسطة الفطريات ، يفضل استخدام الإنزيمات المعزولة Isolated enzymes عن استخدام الخلايا الميكروبية الكاملة Intact cells ، حيث تحتاج هذه المنتجات فى انتاجها الى مجموعة انزيمية متعاقبة فى عملها ، أو مايعرف بالنظام الانزيمى .

وفى أمثال هذه المنتجات ، يفضل استخدام الانزيمات المعزولة ، عن الخلايا الميكروبية الكاملة، للأسباب التالية

---

* أنظر المطفرات بالباب الثامن ، الفصل الأول ، ص ٥٧٥ ومابليها .

أ - تجنب حدوث تفاعلات جانبية غير مرغوب فيها ، والتى تحدث عادة فى حالة إستخدام الخلايا الميكروبية ، وذلك بسبب تعدد الإنزيمات التى بداخل الخلايا الميكروبية .

ب -استخدام كميات قليلة من الانزيمات المعزولة نظراً لوجودها فى صورة مركزة ، مما يؤدى إلى تقليل إحتمال حدوث تغيرات فى طعم المنتجات الغذائية الناتجة .

جـ- تقليل حدوث التلوث الميكروبى الذى يحدث أثناء الانتاج باستخدام الخلايا الميكروبية .

٢- الظروف المؤثرة على تكوين الإنزيمات بالخلايا البكتيرية

الإنزيمات الخلوية البكتيرية أكثر عرضة للتأثر بالتغيرات البيئية المستمرة بمقارنتها بالمحتويات الإنزيمية للخلايا الحيوانية ، وهذه تكون ثابتة نسبياً ، حيث أن طبيعة وضعها فى الخلايا الحيوانية يجعلها أقل عرضة للتغيرات البيئية الشديدة .

ومن الملاحظ أن الكائن البكتيرى الواحد ، لايمتلك كل الانزيمات اللازمة للتفاعل مع كل المكونات البيئية فى وقت واحد ، ولكن المحتويات الإنزيمية الحقيقية للخلايا البكتيرية تكون محددة بدرجة كبيرة بالظروف الخارجية ، التى تكون سائدة أثناء تكوين كل من محتوياتها الانزيمية ، وبالتالى فان الخلية التى تنمو فى ظروف هوائية تكون مجهزة بإنزيمات الأكسدة ، فى حين أن تلك التى تنمو فى ظروف لاهوائية تكون خالية من هذا النوع من الانزيمات ، ولكنها تكون مجهزة بالانزيمات الخاصة بالتحولات الايضية اللاهوائية . وبالتالى فإنه يمكن القول بأن قدرة الانزيمات الفعلية الموجودة فى الخلية البكتيرية ، تتأثر بالعوامل البيئية المحيطة بنمو الخلية .

ومن ضمن هذه العوامل

(أ) التركيب الكيميائى للبيئة .

(ب) العوامل الفيزيوكيميائية السائدة أثناء النمو .

(ج) عمر المزرعة البكتيرية .

(أ) التركيب الكيميائى للبيئة

لوحظ أن قدرة الخلايا البكتيرية على تخمير بعض السكريات ، أو تحليل بعض البروتينات ، تكتسب دائماً إذا ماسبق وتم نمو هذه الخلايا فى وجود تلك السكريات أو البروتينات . وكما ذكر سابقاً ، فإن هناك إنزيماتا مستحثة وأخرى بنائية ، وتتأثر الانزيمات المستحثة بمواد التفاعل الموجودة بالوسط .

(ب) العوامل الفيزيوكيمائية السائدة أثناء النمو

تتمثل أهم العوامل الفيزيوكيميائية السائدة بالوسط ، أثناء النمو البكتيرى ، والمؤثرة على انتاج البكتريا للإنزيمات ، فى التهوية ، وفى قيمة ق يد الوسط ، ودرجة حرارة النمو .

ب١ - التهويـــة

يمكن للبكتريا اللاهوائية إختيارا أن تنمو تحت ظروف هوائية وغير هوائية ، وبالتـالى فإنه يمكنها أن تكون كل محتوياتها الانزيمية تحت أى ظرف من هذه الظروف . وعندما نختـبر نشاط كل إنزيم بمفرده ، فإننا نجد أن تلك الانزيمات التى تعمل فى الظروف الهوائيـــة فقـط ، تتكون بالخلايا عندما تنمو تحت ظروف هوائية ، ولاتتكون بالخلايا الناميـــة تحـت الظـروف اللاهوائية ، والعكس صحيح بالنسبة للإنزيمات التى تعمل فى ظروف لاهوائية . فمثلاً تتكـــون بخلايا بكتريا *E. coli* الإنزيمات النازعة لمجموعة الأمين بالأكســدة Oxidative deaminases فى الظروف الهوائية ، بدرجة أكبر بكثير من تكونها فى غياب الأكسجين الجوى .

ب٢ - قيمة (ق يد) الوسط

درجة تركيز أيون الايدروجين بالبيئة ، النامية بها الخلايا البكتيرية ، عامل مؤثر علـى ماتكونه البكتريا النامية من إنزيمات ، وأيضا على أنواع الإنزيمات التى تنتجها تلـك الخلايـا ، على سبيل المثال ، فإن بكتريا *E. coli* تنمو فى مجال متسع من (ق يد) ، يقع مابين ٤,٥ الـــى ٩.٥ ، ولذلك فإن الإنزيمات التى تكونها تلك البكتريا ، تعتمد كما ونوعا علـــى قيمـــة (ق يـد) البيئة ، وقت تكون الخلايا .

ويتأثر تكوين الإنزيمات البكتيرية بقيمة (ق يد) الوسط بعدة طرق ، من أهمها طريقة التعـادل ، وطريقة الوقاية .

طريقة التعادل : Neutralization mechanism

فى هذه الطريقة ، فإن البكتريا التى تنمو فى مجال متسع من درجـات تركـيز أيـون الايدروجين (ق يد) ، مثل بكتريا *E. coli* ، فإنه بتأثير ق يد الوسط ، يمكن لــهذه البكتريـا أن تكون إنزيماتا فى البيئة الحامضية ، وينتج عن تفاعلاتها موادا قلوية تعـادل حموضـة البيئـة الحامضية ، وفى نفس الوقت تتوقف تلك البكتريا عن انتاج الانزيمات التى تجرى تفاعلات ينتـج عنها موادا حامضية تزيد من حموضة البيئة .

ومن جهة أخرى ، فإنه يمكن لبكتريا الكولاى أن تكون إنزيماتا فى البيئة القلوية ، ينتج عن تفاعلاتها موادا تعادل قاعدية البيئة القلوية ، وفى نفس الوقت تتوقف عن انتاج الإنزيمـــات التى ينتج عن تفاعلاتها موادا قلوية ، تزيد من قلوية البيئة .

فعندما تنمو *E. coli* فى بيئة حامضية التأثير ، فإنها تنتج إنزيمات نازعـة لمجموعـة الكربوكسيل Decarboxylases, COO^- ، مثـل Glutamic acid decarboxylase ، تـهاجم الأحماض الأمينية الموجودة بالوسط ، وتنزع منها مجموعة الكربوكسيل ، وتكـــون الأمينـات المقابلة ، القلوية التأثير .

وإذا نمت *E. coli* فى بيئة قلوية التأثير ، فإنها تتوقف عن انتاج الإنزيمـــات النازعـة لمجموعة الكربوكسيل ، وتنتج بدلاً منها إنزيماتا نازعة لمجموعة الأمين Deaminases, NH_2، مثل Glutamic acid deaminase ، تهاجم الأحماض الأمينية الموجودة بالوسط ، وتنزع منـها مجموعة الأمين ، منتجة أحماضا كيتونية حامضية التأثير .

ومن أمثلة الخلايا البكتيرية الأخرى ، التى تفرز إنزيمات ، تعمل على تحويل أحماض البيئة إلى مواد متعادلة ، عند نمو البكتريا فى وسط حامضى ، بكتريا *Clostridium acetobutylicum* ، فهذه البكتريا تختزل حامض البيوتيريك الموجود بالبيئة الى كحول بيوتانول ، كما تقوم بكتريا *Enterobacter aerogenes* بإختزال حامض البيوتيريك ، إلى مركب متعادل هو أسيتيل مثيل كربينول .

طريقة الوقاية : Protective mechanism

من المعروف أن لكل إنزيم ، قيمة (ق يد) مثلى ، يكون نشاط لانزيم عندها أعلى مايمكن ، فإذا ماتغير رقم (قد يد) الوسط عن ذلك ، إرتفاعا أو إنخفاضا ، نقص نشاط وحدات الانزيم ، وبالتالى تأثر النشاط الأيضى بالخلية ، وحدث ضررا لها ، وتتجنب الخلية البكتيرية ذلك بطريقة وقائية ، وذلك بأن تعوض ماحدث من نقص فى نشاط وحدات الانزيم ، الناتج من تأثير (ق يد) الوسط ، بزيادة عدد وحدات الانزيم المنتج ، حتى يعود النشاط الأيضى إلى مستواه ، حتى عند درجات (ق يد) غير مثالية ، حيث أن

النشاط الفعلى للإنزيم = عدد وحدات الانزيم × نشاط كل وحدة

مثالا على ذلك إنزيم الكاتاليز ، الذى تفرزه البكتريا الهوائية ، وهو إنزيم يقوم بتحليل نواتج الأيض السامة (مثل H_2O_2) ، التى لو بقيت بالخلية البكتيرية لتراكمت بها ، وأدت إلى تسممها وموتها .

(ق يد) المثلى لإنزيم الكاتاليز هى ٦,٥ ، فإذا ماأرتفعت قيمة (ق يد) الوسط عن ذلك ، إلى ٨ أو ٩ مثلا ، قل نشاط وحدات إنزيم الكاتاليز ، وفى هذه الحالة ، فإن الخلية البكتيرية تعالج ذلك ، بإنتاجها لعدد أكبر من وحدات الانزيم ، حتى يعود النشاط الأيضى بالخلية إلى مستواه المطلوب.

ومن أمثلة الإنزيمات الأخرى ، التى يتأثر تكونها بالخلية البكتيرية بطريقة وقائية ، انزيمات Alcohol dehydrogenase, Formic dehydrogenase & Urease ، وهذه الإنزيمات تقوم بتحليل مواد تفاعل سامة ، ضارة للخلايا البكتيرية .

بعض الانزيمات يكون (ق يد) نشاطها الأمثل ، مختلفا عن (ق يد) انتاجها الأمثل بواسطة الخلية البكتيرية ، مثالا لذلك ، إنزيمات Hydrogenases ، ويقع نشاطها الأمثل عند (ق يد) ٦,٠ ، بينما تنتج أقصى كمية منها بواسطة *E. coli* عند (ق يد) حوالى ٨,٠ . وبذلك فان العدد الكبير من وحدات الانزيم التى تكونها الخلية البكتيرية عند (ق يد) ٨,٠ ، يعوض النقص فى نشاط وحدات الانزيم عندما تعمل فى وسطه (ق يد) ، يبتعد عن (ق يد) ٦,٠ الأمثل لنشاط الإنزيم .

ب٣- درجة حرارة النمو

إن درجة حرارة النمو بالوسط النامية به الخلايا البكتيرية ، عامل مؤثر على إنتاجها الإنزيمى ، ولاتعنى درجة الحرارة المثالية للتحولات الأيضية البكتيرية ، أنها نفس درجة الحرارة المثالية لنمو البكتريا ، فقد لوحظ أن تخليق البروتينات الخلوية ، يتم بدرجة أكبر على الدرجات المنخفضة نسبيا من الحرارة . وهذا يعنى أن الكثير من الإنزيمات البكتيرية ، تنتج

عند درجات حرارة منخفضة عن درجات حرارة النمو المثلى للبكتريا . مثالاً لذلك إنزيم Amino acid dehydroxylase الذى تكونه بكتريا *E. coli* بكميات كبيرة عند درجة حرارة ٢٠°م ، وليس على درجة ٣٧°م ، درجة حرارة نموها المثلى .

(جـ) عمر المزرعة البكتيرية

يتأثر انتاج الإنزيمات البكتيرية بعمر المزرعة ، فالخلايا البكتيرية وهى فى أطوار نموها الأولى ، تكون ذات نشاط إنزيمى مرتفع ، إذ يلاحظ أن الخلايا تكون أكبر حجماً فى تلك الأطوار الأولى ، عنها فى أطوار النمو المتأخرة ، مما يعنى أن الخلايا تحتوى على كمية أكبر من البروتوبلازم ، وبالتالى تحتوى على كمية أكبر من الإنزيمات .

ويمكننا تتبع تكوين الإنزيمات بالخلايا البكتيرية ، اذا ماتتبعنا الزيادة فى محتوياتها الخلوية ، وليس عن طريق تقدير عدد الخلايا , وحيث أن الظروف الفيزيائية والكيميائية تتغير أثناء نمو الخلايا فى المزرعة نتيجة للنشاط الخلوى الأيضى ، فإنه يمكننا من ذلك أن نتفهم لماذا يتأثر التكوين الانزيمى بمراحل النمو المختلفة ، فإذا ماقدرنا المحتويات الإنزيمية لمزرعة بكتيرية على أساس الوزن الجاف للخلايا ، فإننا نجد نوعين من الاختلافات بالخلايا ومحتوياتها الانزيمية نتيجة لعمر المزرعة

١ – خلايا تكون ذات نشاط إنزيمى مرتفع فى الفترات الأولى من النمو [شكل ٩ (١) – ٣ أ]، ثم يتناقص هذا النشاط باستمرار النمو ، ثم ينخفض فجأة بعد حدوث الانقسام الخلوى ، ومعظم الانزيمات التى تتبع هذا النوع ، خاصة بعمليات البناء .

٢ – خلايا تكون فى الفترات الأولى من النمو أقل نشاطاً إنزيمياً وأحياناً معدومة النشاط الانزيمى . ثم يزداد النشاط تدريجياً حتى يصل قمته عندما تتوقف الخلايا عن الانقسام ، وعند نهاية النمو ينخفض النشاط الانزيمى كلية نتيجة لموت الخلايا ، أو أكسدة أو هضم البروتين الانزيمى [شكل ٩ (١) – ٣ ب] .

ومعظم الإنزيمات التى تتبع هذا النوع خاصة بعمليات الهدم .



شكل ٩ (١) – ٣ :
تأثر الانتاج الانزيمى البكتيرى بعمر المزرعة
أ – مجموعة انزيمات البناء .
ب – مجموعة الانزيمات المرتبطة بعمليات الهدم

حركيات الإنزيم : Enzyme kinetics

تعد حركيات الإنزيم ، أحد فروع علم الإنزيمات التى تتعلق بالعوامل التى تؤثر فى معدل سرعة التفاعلات المحفزة . فعند قياس النشاط الانزيمى ، فإن الأمر يتطلب تقدير الزمن اللازم لحدوث كمية معينة من التغير فى التفاعل ، تحت الظروف القياسية من تركيز الانزيم ، وتركيز مادة التفاعل ، وعدد من العوامل الأخرى .

عموماً ، فإن من أهم العوامل المؤثرة على حركيات الانزيم

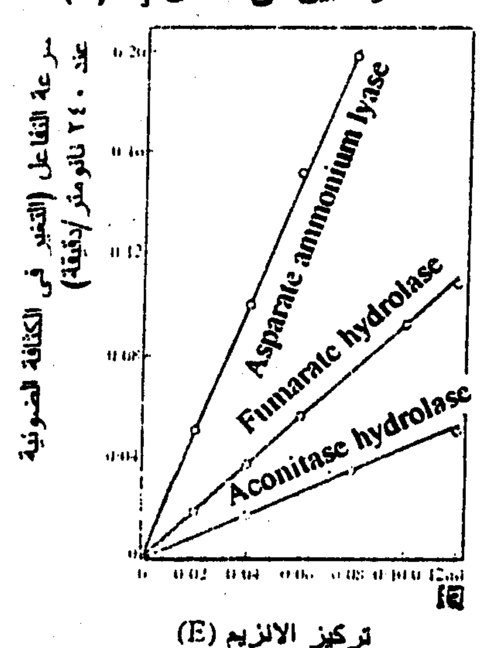
١ - تركيز الانزيم .
٢ - تركيز مادة التفاعل .
٣ - المثبطات .
٤ - المنشطات .
٥ - تركيز أيون الايدروجين .
٦ - درجة الحرارة .
٧ - عوامل اخرى .

١- تركيز الإنزيم : Enzyme concentration

تعتمد سرعة التفاعلات الحيوية على مايتوفر من جزيئات إنزيمية فى محلول التفاعل ، وتتناسب طرديا معها تحت ظروف خاصة ، كما هو مبين فى المعادلة

$V = K (E)$ ، حيث V : السرعة الفعلية (E) : تركيز الانزيم K : ثابت التفاعل

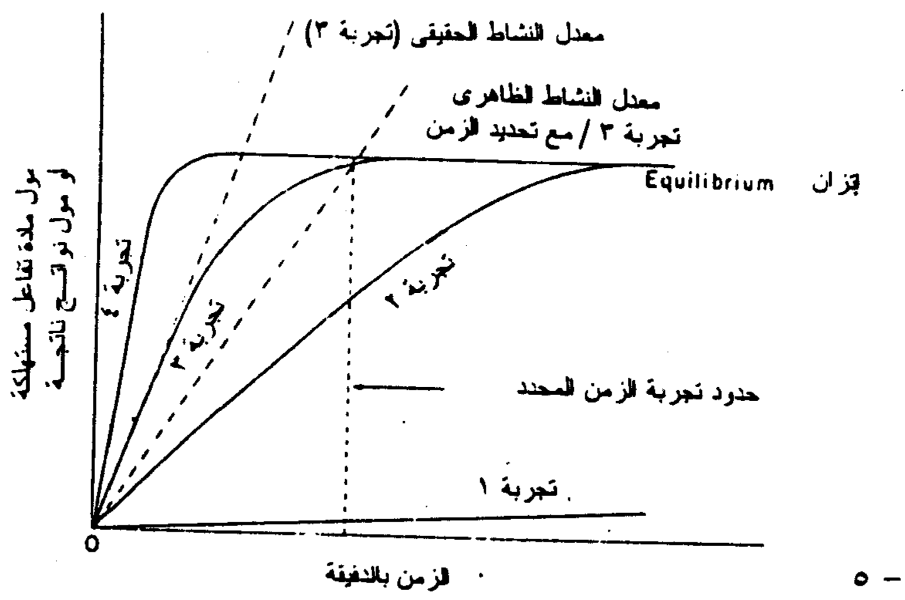
وبالتالى فاننا نحصل على خط مستقيم عند دراسة علاقة السرعة الفعلية بتركيز الانزيم ، ويختلف ميل هذا الخط تبعاً لنوع الإنزيم ، كما هو مبين فى الشكل [٩ (١) - ٤] .



شكل ٩ (١) - ٤ :
تأثير تركيز الانزيم (E) ، على السرعة الفعلية للتفاعل (V)

(EC.4.3.1.1.) Asparate ammonium lyase
(EC,4,2,1,2,) Fumarate hydrolase
(EC.4.2.1.3.) Aconitase hydrolase

كما يرتبط النشاط الانزيمى ، بكفاءة الطريقه المستخدمة فى التقدير ، وخاصة من حيث الزمن المتاح فى كل طريقة ، كما هو موضح فى الشكل [٩ (١) - ٥] .

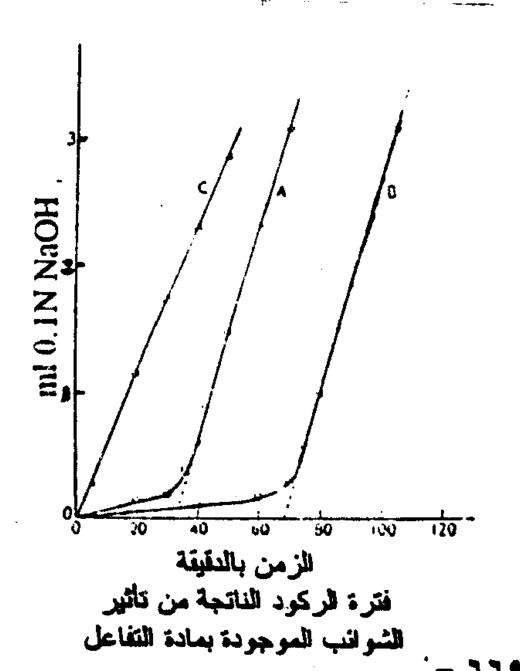


شكل ٩ (١) - ٥

ارتباط نشاط الانزيم فى وحدة الزمن بالطريقة المستخدمة فى تقدير نشاط الانزيم

كما يحدث أحيانا إزاحة للخط المستقيم على المحور السينى ، وذلك نتيجة وجود كميات ضئيلة من شوائب عالية السمية [شكل ٩ (١) - ٦] .

كما يلاحظ أن هناك علاقة طردية بين مساحة الازاحة وكمية الشوائب الموجودة بالإنزيم .



فترة الركود الناتجة من تأثير الشوائب الموجودة بمادة التفاعل

التحلل لمادة Ethyl mandelate بإنزيم الاستريز الكبرى
A : ٠,٠٠٨ مولر شوائب
B : ٠,٠١٦ مولر شوائب
C : بدون شوائب

شكل ٩ (١) - ٦ :

تأثير الشوائب الموجودة بمادة التفاعل على درجة نشاط الإنزيم .

٢ - تركيز مادة التفاعل : Substrate concentration

تتوقف سرعة تفاعل الانزيم عند وجوده بكمية محددة ، على تركيز مـــادة التفـــاعل ، حيث تزداد السرعة بزيادة تركيز مادة التفاعل التى يعمل عليها الانزيـــم إلـــى أن يصـــل هـــذا التركيز الى حد معين ، وهو تشبع جميع المراكز النشطة للإنزيم بمادة التفاعل ، وبعدها لايتـــأثر نشاط الانزيم بزيادة التركيز من مادة التفاعل .

والمعادلة العامة التالية تبين مراحل التفاعل الانزيمى

$$\underset{\text{الانزيم}}{E} + \underset{\text{مادة التفاعل}}{S} \underset{K_2}{\overset{K_1}{\rightleftharpoons}} \underset{\text{معقد الانزيم ومادة التفاعل}}{ES} \underset{K_4}{\overset{K_3}{\rightleftharpoons}} E + \underset{\text{المنتج}}{P}$$

K_1 , K_2 , K_3 & K_4 ثوابت سرعة التفاعل

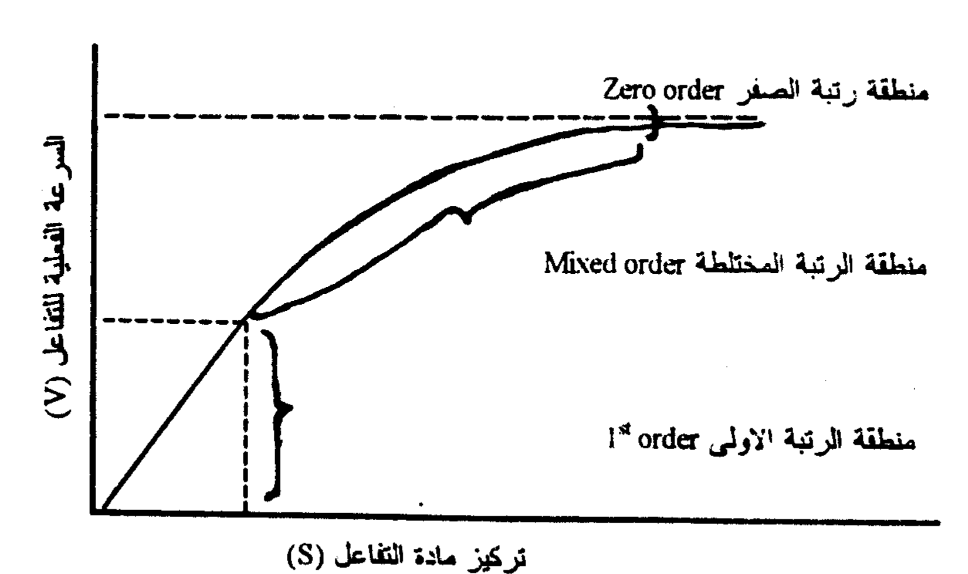
وبالتالى فإنه يمكن تمييز ثلاث مراحل للتفاعل الانزيمى مع مادة التفاعل ، هى

١ - مرحلة الإتحاد العكسى بين الإنزيم E ومادة التفاعل S ، لتكون المركب المعقد ES المـكون من الانزيم ومادة التفاعل .

٢ - مرحلة الثبات Steady state، حيث يصبح معدل تكوين المركب ES مساوياً لمعدل تحلله.

٣- مرحلة التحلل العكسى Decomposition للمركب المعقد ، مكوناً الانزيم الحر والمنتج P .

وبدراسة العلاقة بين تركيز مادة التفاعل والسرعة الفعلية يمكن تمييـــز ثـــلاث رتـــب للتفاعل كما هو مبين بالشكل [٩ (١) - ٧] البيانى التالى



شكل ٩ (١) - ٧ : العلاقة بين تركيز مادة التفاعل (S) ، والسرعة الفعلية للتفاعل (V)

وبالتالى فان $V = V max (S) / K_m + (S)$

حيث أن V = السرعة الفعلية ، V max = السرعة القصوى

(S) = تركيز مادة التفاعل ، K_m = ثابت ميكائيلس Michaelis constant

تفسر كلا من K_m , V max معايير حركيات الانزيم ، ويتميز ثابت ميكائيلس K_m بالصفات الآتية

أ – له نفس وحدات تركيز مادة التفاعل (S) مول/لتر

ب – يمثل K_m تركيز مادة التفاعل ، عندما تكون السرعة الفعلية مساوية لنصف قيمة السرعة القصوى V max فى ظروف التجربة .

جـ – يمثل K_m ثابت مركب ، يتكون من عدة ثوابت مختلفة ، حيث $K_m = (K_2 + K_3) / K_1$

ونظرا لكون الـ K_m ثابتاً لإنزيم معين ، فلذلك يستخدم K_m للتفريق بين الانزيمات المنتجة من كائنات حية مختلفة ، أو من أنسجة مختلفة لنفس الكائن الحى ، أو من نفس النسيج فى مختلف مراحل نموه . وبهذه الطريقة يمكن معرفة مدى تشابه الانزيم أ (A) ، مع الانزيم ب (B) ، أو أنهما بروتينات مختلفة تحفزان نفس التفاعل .

كما يعطى K_m قيمة تقريبية لمستوى مادة التفاعل داخل الخلايا ، فكلما قلت هذه القيمة ، دل ذلك على وجود تآلف بين الانزيم ومادة التفاعل ، مما يؤدى الى زيادة سرعة التفاعل الانزيمى .

النشاط الانزيمى

يعبر عن معدل النشاط الإنزيمى ، بكمية مادة التفاعل التى تتحول فى الدقيقة (ميكرومول مادة تفاعل/دقيقة) .

ويتوقف هذا المعدل ، كما ذكر سابقا ، على مدى التآلف بين مادة التفاعل والانزيم ، بما فى ذلك K_m والسرعة القصوى V max ، وذلك بالإضافة الى تركيز الانزيم [E] ، وتركيز مادة التفاعل [S] ، والمنتج [P] . ويصل التفاعل الى السرعة القصوى عندما يكون تركيز مادة التفاعل مرتفعاً ، بحيث يشبع كل المراكز النشطة للإنزيم .

رتبة التفاعل : Reaction order

يلاحظ فى الشكل البيانى السابق [٩ (١) – ٧] الذى يربط قيمة V (السرعة الفعلية) بتركيز مادة التفاعل (S) ، وجود ثلاث مناطق ، تمثل ثلاث رتب للتفاعل ، نتيجة لتأثر سرعة التفاعل بزيادة تركيز مادة التفاعل .

* فعندما يكون تركيز مادة التفاعل منخفضا ، أى أن $K_m > (S)$ ، فان V ترتبط مع (S) ، بمعنى أن سرعة التفاعل تتناسب طرديا مع تركيز مادة التفاعل ونحصل على خط مستقيم ، وتسمى هذه المنطقة ، بمنطقة أو رتبة التفاعل الاولى First order kinetics .

- أما عندما يكون تركيز مادة التفاعل عالية جداً أى أن $(S) >> K_m$ ، فلا تعتمد السرعة على تركيز مادة التفاعل ، لأن مراكز نشاط الإنزيم تكون قد تشبعت بمادة التفاعل ، بحيث لاتؤثر بعد ذلك زيادة تركيز مادة التفاعل على نشاط الإنزيم ، وتسمى المنطقة حينئذ بمنطقة رتبة الصفر Zero order .
- أما عندما يكون تركيز مادة التفاعل بدرجة متوسطة ، فالعلاقة بين V ، (S) لاتتبع الرتبة الأولى ولارتبة الصفر ، ولكن تشكل رتبة مختلطة Mixed order kinetics .

٣- المثبطات : Inhibitors

قد يحدث التثبيط فى نشاط الإنزيم ، نتيجة تلف البروتين الانزيمى ، بسبب الحموضة أو الحرارة أو غيرها من العوامل التى ستذكر لاحقاً ، ولكن ماسوف نناقشه هنا ، هو التثبيط الذى يحدث ، بإيقاف النشاط أو إبطائه ، بدون تلف البروتين الإنزيمى ، ويتم ذلك التثبيط بطرق متعددة ، بواسطة مايعرف بالمثبطات الكيميائية Inhibitors (I) ، التى ترتبط بمراكز نشاط الانزيم ، فتثبطه .

ويعرف المثبط (I) ، بأنه المادة التى تقلل من سرعة التفاعل ، وقد يشبه المثبط من ناحية التركيب مادة التفاعل أو قد يختلف عنها .

تأثير المثبطات

تختلف طرق تأثير المثبطات بإختلاف أنواعها ، فبعضها يؤثر على مادة التفاعل نفسها ، والبعض الآخر يتحد مع مراكز النشاط Active centers الموجودة على سطح الإنزيم ، مما يقلل من قابلية الانزيم E للإتحاد بمادة التفاعل S .

والبعض الثانى من المثبطات ، يؤثر فى التفاعلات ، بإتحاده مع مواقع أخرى على الإنزيم ، وهذا النوع من الإتحاد قد لايؤثر فى قابلية الانزيم على الاتحاد بمادة التفاعل ، ولكن يؤثر فى معدل سرعة تحول معقد الانزيم ومادة التفاعل ES ، الى المنتج P .

التثبيط العكسى واللاعكسى

قد يكون تأثير المثبط عكسياً Reversible ، وقد لايكون عكسياً Irreversible .

يعرف المثبط العكسى ، بأنه المادة التى تتحد مع الانزيم مثبطة للتفاعل الإنزيمى . وبعد حدوث التثبيط ، أو إزالة المثبط ، فان التفاعل الإنزيمى يعود الى نشاطه .

أما المثبط اللاعكسى ، فهو المادة التى تتحد مع الإنزيم بصورة غير عكسية ، والتى تؤدى الى الزيادة فى درجة التثبيط مع مرور الزمن ، معطية فى النهاية مايسمى بالتثبيط المعقد .

التثبيط اللاعكسى Irreversible inhibition

فى التثبيط اللاعكسى لايمكن إعادة الانزيم إلى نشاطه ثانية ، بعد تثبيطه ، بسبب التغير الذى حدث فى واحد أو أكثر من مراكز نشاط الإنزيم ، وقد يتشابه التثبيط اللاعكسى ،

مع التثبيط العكسى غير التنافسى ، ولكن التفاعل فى حالة التثبيط اللاعكسى يكون غير عكسى ، كما ذكر سابقاً .

ويوضح التثبيط اللاعكسى بالمعادلة الرمزية التالية

$$E + S \underset{}{\overset{K_s}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{K_p} E + P$$

$$+$$
$$I$$
$$\downarrow$$
$$EI$$

من أمثلة التثبيط اللاعكسى ، مايحدث فى بعض إنزيمات التنفس ، عندما تتحد المجموعة النشطة (-SH) الموجودة بالانزيم ، مع مادة Iodoacetamide بارتباط غير عكسى ، لتكوين مشتق انزيمى Covalent derivative of the enzyme ، ذلك حسب المعادلة التالية

$$E\text{-}SH + I\,CH_2 - CONH_2 \longrightarrow E\text{-}S\text{-}CH_2\text{-}CONH_2 + HI$$

Iodoacetamide **مشتق انزيمى**

ومن الامثلة ايضا للتثبيط اللاعكسى ، مايحدث عند ارتباط غاز الاعصاب (Di isopropyl fluoro phosphate. DFP) بصورة غير عكسية ، مع وحدات السرين Serine الموجودة على الإنزيمات الخاصة بالتحلل المائى .

التثبيط العكسى : Reversible inhibition

يتم التثبيط العكسى بواسطة المثبطات بطرق متعددة ، ويتوقف ذلك على نوع تأثير المثبطات العكسية على الثوابت الحركية للإنزيمات ، ومن طرق التثبيط العكسى :

أ – التثبيط التنافسى ، ب – غير التنافسى ، جـ – اللاتنافسى ، د – المتنوع .

أ – التثبيط التنافسى : Competitive inhibition

يحدث هذا التثبيط بسبب وجود مثبطات (Inhibitors. I) تنافسية، **والمثبطات التنافسية**، هى المواد التى تتنافس مع مواد التفاعل ، على الاتحاد بالمراكز النشطة الموجودة بسطح الانزيم ، وبذلك تتحد مع تلك المراكز ، مانعة إرتباط الانزيم بمادة التفاعل .

قد يكون المثبط مشتق من مادة التفاعل ، أو من أحد المواد الموجودة بالخلية ، أو من نواتج التفاعل ، أو من مادة أخرى أساسية للتفاعل .

من أمثلة تفاعلات التثبيط التنافسى

أ، – تثبيط حامض الماليك لإنزيم Succinic dehydrogenase ، الذى يحول حامض السكسنيك الى فيوماريك ، حسب المعادلة

$$COOH - CH_2 - CH_2 - COOH \xrightarrow{\text{Enzyme-FAD}} COOH - CH = CH - COOH + FADH_2$$

حامض سكسنيك　　　　حامض فيوماريك

فى وجود حامض المالونيك ورمزه $COOH - CH_2 - COOH$ ، فإنه يتنافس مع حامض السكسنيك ، لتشابهه معه فى التركيب ، على الاتحاد بالمراكز النشطة التى على سطح الانزيم ، ويثبط نشاط الإنزيم دون أن يتفاعل معه ، لأن الانزيم متخصص تخصصا مطلقاً مع حامض السكسنيك .

ويمكن تثبيط التفاعل السابق ، ببعض الأحماض الأخرى ، خلاف حامض المالونيك ، التى تتشابه فى التركيب مع حامض السكسنيك ، مثل أحماض

الأكساليك　　$COOH - COOH$

الاكسال استيك　　$COOH - CH_2 - CO - COOH$

ويمكن توضيح ذلك بالمعادلات الرمزية التالية

* فى حالة عدم وجود المثبط

يتحد الإنزيم مع حامض السكسنيك ، وينتج حامض فيوماريك

$$E + S \underset{}{\overset{K_s}{\rightleftharpoons}} ES \underset{}{\overset{K_p}{\rightleftharpoons}} E + P$$

* فى حالة وجود المثبط

يتحد الانز يم مع المثبط (I) ، ويتكون مركب وسطى (EI) ، ويقف التفاعل عند هذا الحد ، دون أن يستمر

$$E + I \underset{}{\overset{K_I}{\rightleftharpoons}} EI \qquad \text{Where, } K_I = \frac{[E]\,[I]}{[EI]}$$

وقــد أوضحــت الدراســات التــى قام بهــا كـــلا مـــن Lineweaver-Burk*، أن زيادة قيمة المثبط التنافسى (I) تعمل على زيادة قيمة K_I ، بينما تبقى V max بدون تغيــير ، كما تعتمد درجة التثبيط Degree of inhibition على تركيز المثبط التنافسى [I] ، وعلى تركـيز مادة التفاعل [S] ، حيث أن الزيادة فى قيمة [S] عندما تكون قيمة [I] ثابتة ، تقلل مـــن درجـــة التثبيط ، بما يعنى أن الزيادة فى [I] مع بقاء [S] ثابتة ، تزيد من درجة التثبيط .

أ١ – من الأمثلة التقليدية للتثبيط التنافسى ، تنافس عقارالسلفانيلاميد مع حـــامض بـــارا أمينـــو بنزويك لتشابهه معه فى التركيب ، كما يتضح من الرمز البنائى التالى



P- amino benzoic acid　　　Sulfanilamide

يشكل حامض بارا أمينو بنزويك جزءا مـــن تركيـــب مرافـــق الانزيـــم المســـمى Tetra hydrofolic acid (THFA) الهام فى عمليات الأيض الغذائى ، ونتيجة للتثبيـــط التنافسى من السلفانيلاميد ، فإن السلفانيلاميد يحل محل حامض البارا أمينوبنزويك فـــى تركيب THFA ، وبذلك يتكون مركب أخر غير مركب مرافق الانزيم THFA ، ومن ثم تتوقف عمليات الأيض الغذائى التى كان مفترضا أن تتم بواسطة THFA .

أ٢ – من الأمثلة الأخرى للتثبيط التنافسى ، مايعرف بالتثبيط بواسطة التغذية الراجعة (المرتـــدة) Feed back inhibiton ، حيث يقوم أحد نواتج التفاعل بتثبيط الانزيم تثبيطا تنافسياً ، كمـــا يتضح من المعادلة التالية

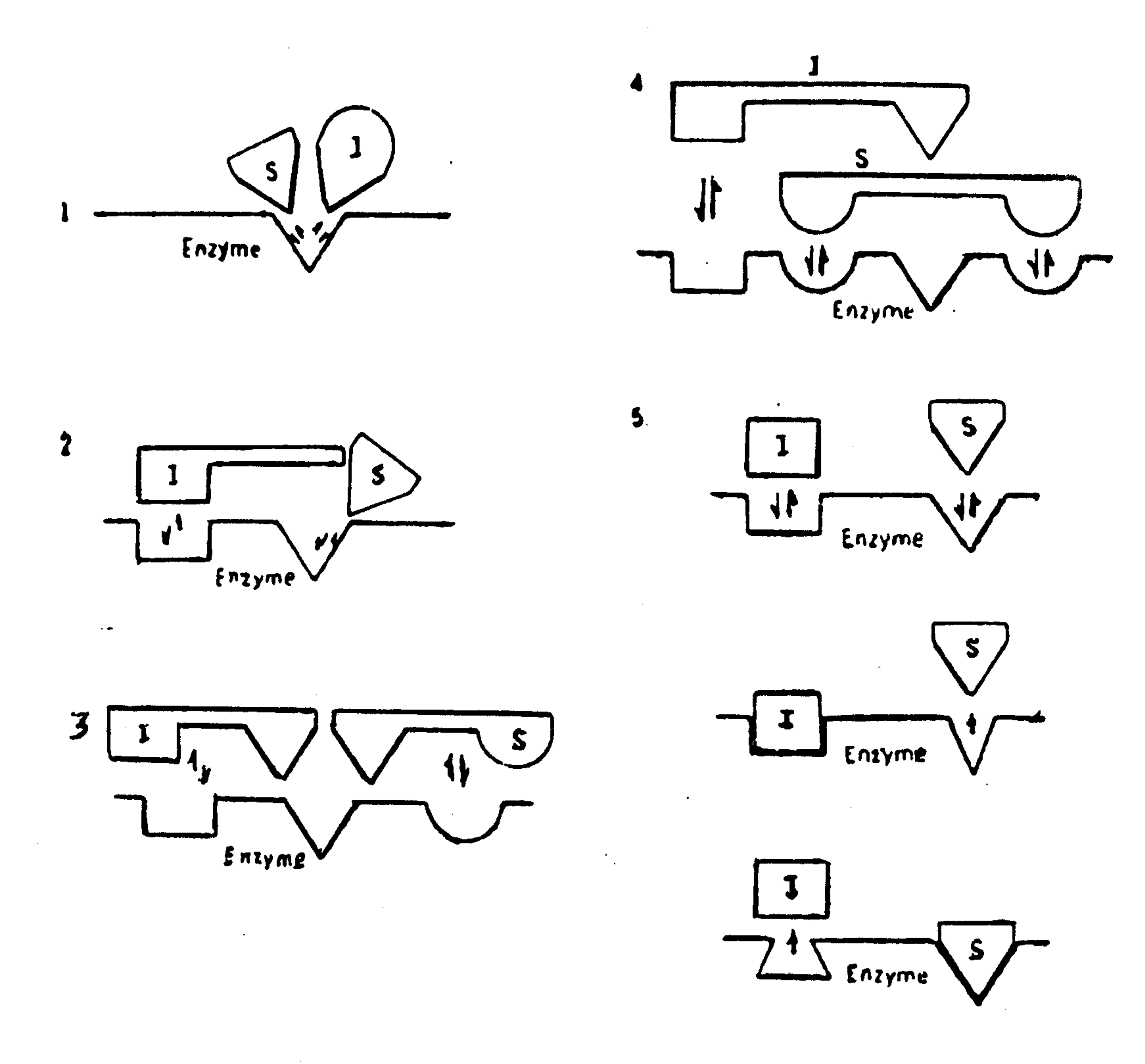
$$\text{Maltose} \underset{}{\overset{\text{Maltase}}{\rightleftharpoons}} 2\ \text{glucose}$$

يلاحظ فى هذا التفاعل ، بأن درجة تآلف الجلوكوز مع إنزيم المالتيز ، تكون أكبر من تآلف الانزيم مع مادة المالتوز ، وبالتالى فانه بتقدم التفاعل وتراكم النواتج ، فإن سرعة التفـــاعل تقل ، لتنافس الجلوكوز مع المالتوز على الاتحاد بالانزيم .

ويوضح الشكل [٩ (١) – ٨] نماذج من التثبيط التنافسى

---

* Lineweaver, H. and D. Burk (1934). J. Amer. Chem. Soc. 56, 658.



شكل ٩ (١) - ٨ : نماذج من التثبيط التنافسى

S : مادة التفاعل Substrate ، I : المثبط Inhibitor ، E : انزيم Enzyme

(1) S و I يتنافسان على موقع الارتباط ، بناء على تشابههما

(2) S و I مواقع متبادلة ، بسبب العائق الفراغى Steric hinderance

(3) S و I يشتركان فى المجموعة العامة الرابطة على الانزيم

(4) S و I حدوث التنافس نتيجة لمواقع الارتباط المتداخلة Overlapping binding لكل من S و I .

(5) يؤدى الارتباط عند موقع المثبط الى حدوث تغيرات وضعية على الانزيم ، تسبب تلف مواقع إرتباطه بمادة التفاعل .

ب – التثبيط غير التنافسى : Non-competitive inhibition

يحدث هذا التثبيط بسبب وجود مثبطات غير تنافسية ، وهذه عبارة عن مواد لاتتنافس مع مواد التفاعل ، على الارتباط بالمراكز النشطة بسطح الإنزيم ، ولكننا نجد أن هذه المثبطات غير التنافسية (I) ، تتحد مع الانزيم لتكوين المركب EI ، أو تتحد مع المركب الوسطى ES لتكوين المركب المعقد ESI ، فى مواقع مختلفة ، بصورة عكسية وعشوائية ومستقلة ، كما يتميز المركب المعقد الناتج ESI ، بانه غير نشط التحفيز ، ويتضح ذلك من المعادلات الرمزية التالية

$$E + S \underset{}{\overset{K_s}{\rightleftharpoons}} ES \underset{}{\overset{K_p}{\rightleftharpoons}} E + P$$

$$E + I \overset{K_I}{\rightleftharpoons} EI \qquad ES + I \rightleftharpoons ESI$$

$$EI + S \rightleftharpoons ESI$$

وقد بينت الدراسات التى قام بها كل من Lineweaver-Burk and Eadie-Hofstee ، أن درجة التثبيط غير التنافسى لاتعتمد على تركيز مادة التفاعل ، كما أن التثبيط غير التنافسى لايؤثر على قيمة ثابت ميكائيليس K_m ، بينما يقلل من السرعة القصوى V max للتفاعل .

من أمثلة تفاعلات التثبيط غير التنافسى

ب١ – التثبيط الشائع بالنسبة للإنزيمات متعددة مواد التفاعل Multisubstrate enzymes ، كما يحدث عند تثبيط AMP لإنزيم Fructose 1-6 diphosphatase .

ب٢ – التثبيط نتيجة إتحاد أيونات بعض المعادن الثقيلة ، مثل Ag^{1+}, Cu^{2+}, Mg^{2+}, Pb^{2+} ومشتقاتها ، مع مجموعة السلفيدريل (SH–) النشطة الموجودة فى بعض الإنزيمات أو مرافقاتها ، مثل الموجودة فى وحدات أحماض السستئين Cysteine

$$E - SH + Ag^{+} \rightleftharpoons E - S - Ag + H^{+}$$

ب٣ – التثبيط الناتج عن إتحاد المعادن النشطة الموجودة بتركيب الانزيم ، بمجاميع كيميائية أخرى ، مما يوقف نشاط الانزيم .

وجدول [٩ (١) – ٥] التالى يوضح بعض المواد المثبطة تثبيطاً غير تنافسياً ، لنشاط بعض الانزيمات . وتعتبر هذه المواد المثبطة سموماً للإنزيمات .

جدول ٩ (١) - ٥ : بعض المواد المثبطة لنشاط الانزيمات تثبيطاً غير تنافسيا .

المادة المثبطة	المرافق أو الجزء الانزيمى الذى يتحد مع المثبط
سيانيد HCN	$Cu; Fe^{3+}; Zn$
معادن ثقيلة مثل $Ag^{1+}, Cu^{2+}, Hg^{2+}, Pb^{2+}$	• مجموعة HS . • ترسيب البروتين
أول أكسيد الكربون CO	$Ca; Fe^{2+}$
أزيد $Na - CO - N_3$	* Fe^{3+} * انزيمات البورفرين
كبريتيد H_2S	معادن متعددة
فلورين ، اكسالات	$Ca ; Mg$
عوامل مخلبية Chelating agents	$Fe^{2+} ; Fe^{3+}$

ج - التثبيط اللاتنافسى : Uncompetitive inhibition

يحدث هذا التثبيط بسبب وجود مثبطات لاتنافسية (I) ، وهى مواد ترتبط بصورة عكسية مع المركب الوسطى (ES) ، مكونة معقداً (ESI) غير نشط .

لاترتبط المثبطات اللاتنافسية مع الانزيم الحر ، كما أن هذه المثبطات نادرة الحدوث فى الأنشطة الانزيمية التى لها مادة تفاعل واحدة ، ولكنها كثيرة الحدوث فى الأنشطة الانزيمية التى لها مواد تفاعل عديدة Multilsubstrate enzymes ، ويمكن توضيح ذلك بالتوازن التالى

$$E + S \underset{}{\overset{K_s}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{K_p} E + P$$

$$ES + I \overset{K_I}{\rightleftharpoons} ESI$$

ومن الدراسات التى قام بها كل من Lineweaver-Burk and Eadie-Hofstee ، فقد وجد أن المثبط اللاتنافسى يقلل من السرعة القصوى V max للتفاعل ، ويقلل أيضا من قيمة ثابت ميكانيليس K_m .

د - التثبيط بالمثبطات ذات التأثير المتنوع : Inhibition with mixed inhibitors

يحدث هذا التثبيط بسبب وجود مثبطات قادرة على إحداث نوعين من التثبيط : التنافسى ، واللاتنافسى . وتؤثر المثبطات ذات التأثير المتنوع على كل من السرعة العظمى V max للتفاعل ، وقيم ثابت ميكائيليس K_m .

ويوضح الجدول [٩ (١) - ٦] التالى ، أهم الفروق الموجودة بين أنواع التثبيط العكسى المختلفة ، بالنسبة لقيم التفاعل الخاصة بالسرعة العظمى V max ، وقيم ثابت ميكائيليس K_m حسب دراسات Lineweaver- Burk * .

جدول ٩ (١) - ٦ : أهم الفروق بين أنواع التثبيط العكسى المختلفة .

نوع التثبيط العكسى	ناتج التأثير	الاتحاد مع
تنافسى Competitive	ثبوت قيمة V max ، زيادة قيمة K_m	E
غير تنافسى Non-competitive	تقليل قيمة V max ، ولايؤثر على قيمة K_m	E & ES
لاتنافسى Un-competitive	تقليل قيمة V max ، تقليل قيمة K_m	ES
متنوع Mixed	يؤثر على قيمة كل من V max ، K_m	E & ES

* **Lineweaver, H. and D. Burk (1934)**. J. Amer. Chem. Soc. 56, 658.

أهمية دراسة التثبيط

من خلال الدراسات التى تمت على تنظيم الانزيمات ومثبطاتها ، أمكن التعرف على تخصص الانزيمات ، وطبيعة عملها ، والمراكز النشطة بالانزيم .

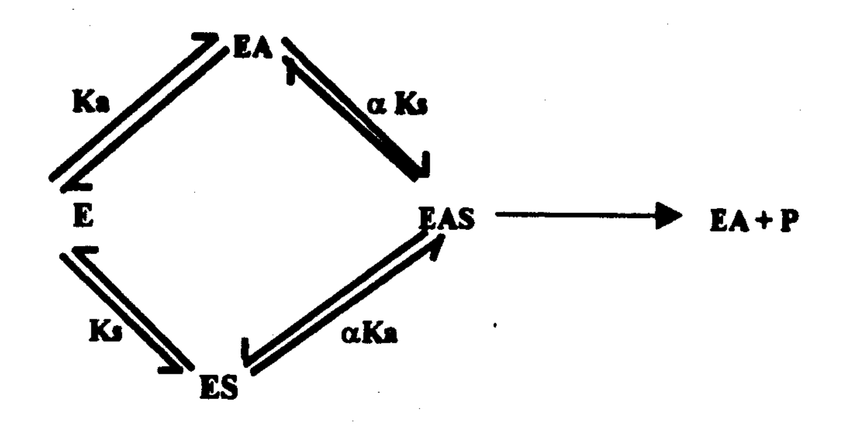
وباستخدام مثبطات الانزيم ، أمكن التعرف على المركبات الوسطية التى تحدث بدورات الأيض الغذائى التى تقوم بها الميكروبات ، وذلك بتثبيط الانزيم بواسطة المثبطات ، عند خطوات معينة بدورة الأيض ، وتجميع المركبات الوسطية الناتجة والتعرف عليها ، وذلك كما حدث باستعمال حامض المالونيك ، لدراسة المركبات الوسطية فى دورة حامض الستريك .

كما أن للتثبيط الإنزيمى أهميته العلاجية ، لأن مركباتا عديدة مثل مركبات السلفا والمضادات الحيوية ، التى تستعمل فى العلاج ، توقف نشاط الميكروبات المرضية عن طريق تثبيط إنزيماتها .

٤ – المنشطات : Activators

المنشطات مواد ذات وزن جزيئى صغير ، مثل بعض الأيونات الموجبة أو السالبة التى توجد فى وسط التفاعل ، وبعض الجزيئات العضوية التى تشكل مركباتا وسطية فى التفاعلات الإنزيمية ، وتقوم المنشطات بتنشيط التفاعل ، مما يؤدى الى زيادة فى سرعة التفاعل .

تتحد المنشطات مع الإنزيمات فى مواقع خاصة تسمى بالمواقع الالوستيرية ، عندما يكون وجود المادة المنشطة ضروريا وأساسيا للتفاعل ، وبذلك تسهم المنشطات فى العمليات التنظيمية للإنزيمات الالوستيرية ، ويوضح ذلك بالشكل التخطيطى التالى



حيث E : الانزيم ، S : مادة التفاعل ، P : المنتج ، A : المنشط ، K : ثوابت التفاعل

وجود المنشطات يعتبر ضروريا لبعض الإنزيمات وذلك لاستمرارية التفاعل ، ويعود ذلك إلى نوع من الإتحاد الإجبارى الذى يحدث بين المنشط والانزيم ، أو المنشط ومادة التفاعل، قبل حدوث الاتحاد بين الانزيم ومادة التفاعل . وفى بعض الأحوال ، يتحد المنشط مع موقع على سطح الانزيم بعيد عن مركز النشاط ، يؤدى الى حدوث تعديل فى التركيب الفراغى للإنزيم ، ليتطابق مع مادة التفاعل ، مما يؤدى الى دفع معدل سرعة التفاعل .

٥ – تركيز أيون الايدروجين (ق يد)

يتأثر معدل نشاط الإنزيم ، بتغير تركيز أيون الايدروجين أو الايدروكسيل بالوسط ، كما أن الانزيمات تختلف عن بعضها ، من حيث رقم ق يد الأمثل الذى يعمل عنده الانزيم . فبينما نجد أن أعلى نشاط لإنزيم الببسين يكون عند (ق يد) ٢,٠ ، نجد أن إنزيم كربوكسى ببتيديز البنكرياسى Pancreatic carboxy peptidase ، المعزول من البنكرياس ، يعطى أعلى نشاط له عند (قد يد) ٨,٠ .

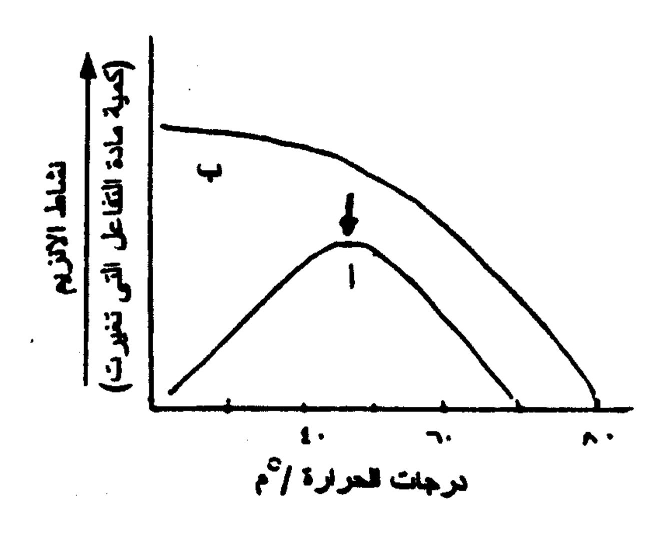
وباستثناء بعض الإنزيمات ، فإن الرقم الايدروجيني الأمثل لأغلب الانزيمات يتراوح مابين ٤.٥ الى ٨,٥ ، وتستطيع الانزيمات تحمل التغيرات البسيطة في حموضة أو قلوية الوسط ، دون أن تتلف ، لأن لها خواص أمفوتيرية ، ولكن مع التغيرات العالية ، التي تزيد عن الحد الأقصى أو تقل عن الحد الأدنى للنشاط ، فإن الانزيم يتلف ، ويقف نشاطه .

ويمكن معرفة درجة ق يد المثلى Optimum pH ، لنشاط الانزيم ، الذي يعطي عندها الانزيم أعلى معدل لنشاطه ، عن طريق رسم منحنى يبين العلاقة بين سرعة التفاعل وقيم (ق يد) ، وكما ذكر ، فإن الابتعاد عن المستوى الأمثل ، سواء بالزيادة أو بالنقص ، يقلل من نشاط الانزيم ، حتى يقف النشاط نهائيا عند درجة (ق يد) القصوى Maximum pH ، أو الصغرى Minimum pH ، وقد يؤدي ذلك الى تلف الانزيم ، وفقد نشاطه ، وهذا التحول غير عكسي . وبذلك فإن نشاط الانزيم يقع في المدى الذي ينحصر مابين درجتي (ق يد) القصوى والصغرى .

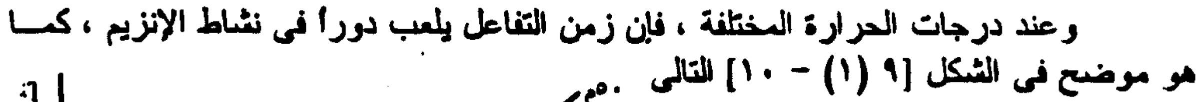
بعض الإنزيمات ، مثل الكاتاليز ، يقع نشاطها على مدى واسعا من (ق يد) ، كما يوجد أكثر من (ق يد) أمثل لنشاط بعض الانزيمات التي تعمل على أكثر من مادة تفاعل .

٦- درجة الحرارة : Temperature

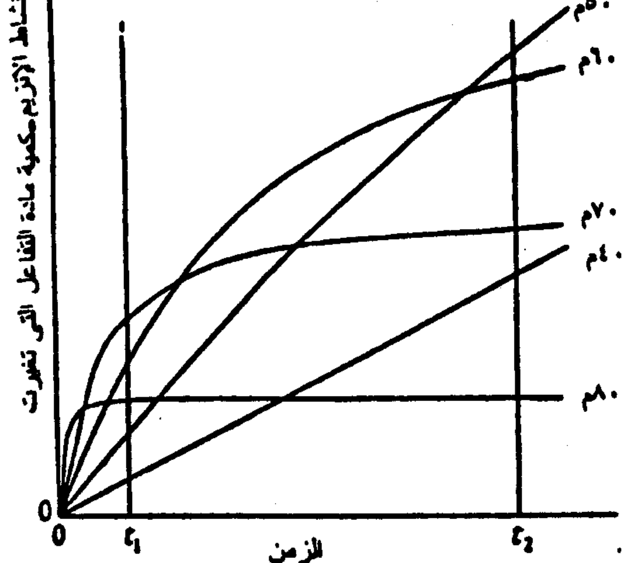
يزداد معدل نشاط الانزيم بزيادة درجة الحرارة ، عادة حتى حوالي ٤٥°م ، بعد ذلك ينخفض معدل النشاط الانزيمي بزيادة الحرارة الى ٧٥°م ، بعدها يحدث تغير في طبيعة البروتين الانزيمي ، ويفقد نشاطه [شكل ٩ (١) - ٩] ، باستثناء إنزيمات البكتريا المتجرثمة ، التي تقاوم درجات الحرارة المرتفعة .



شكل ٩ (١) - ٩ : تأثير درجة الحرارة على نشاط الانزيم .
أ : أعلى نشاط للانزيم عند درجة الحرارة المثلى .
ب : منحنى يبين تلف البروتين الانزيمي بالحرارة .



وعند درجات الحرارة المختلفة ، فإن زمن التفاعل يلعب دوراً فى نشاط الإنزيم ، كما هو موضح فى الشكل [٩ (١) - ١٠] التالى .



شكل ٩ (١) - ١٠ :

تأثير زمن التفاعل عند درجات حرارة مختلفة على نشاط الانزيم

وكما ذكر فى حالة تأثير تركيز أيون الأيدروجين على نشاط الإنزيمات ، فإن لكل إنزيم درجة حرارة مثلى يعطى عندها أعلى معدل لنشاطه ، والإبتعاد عن الدرجة المثلى ، سواء بالزيادة أو بالنقص يقلل من نشاط الانزيم ، حتى يقف النشاط نهائيا عند الدرجة القصوى Maximum أو الصغرى Minimum ، ويقع النشاط الانزيمى فى المدى الذى ينحصر بين درجة الحرارة الصغرى والقصوى .

ويلاحظ أن إرتفاع درجة الحرارة عن القصوى ، كالغليان مثلاً لعدة دقائق ، يؤدى إلى تلف البروتين الانزيمى وفقد نشاطه ، أما الإنخفاض عن درجة الحرارة الصغرى ، فإنه يوقف نشاط الانزيم دون أن يتلفه ، ويمكن حفظ معظم الانزيمات على درجة حرارة الصفر المئوى أو عند أقل من ذلك .

والإنزيمات وهى جافة ، تكون أكثر مقاومة لتأثير الحرارة ، عن الانزيمات التى توجد فى محلول ، مثالاً على ذلك فإن إنزيم الرينين Renin الجاف ، لايتلف إلا بعد تعرضه لدرجة حرارة أعلى من ١٥٥°م .

٧ - عوامل أخرى تؤثر على الانزيمات ونشاطها

إضافة إلى ماسبق ، فإن الانزيمات لكونها بروتينات ، فإنها تتأثر بالعوامل المختلفة التى تؤثر على البروتينات ، مثل ترسبها بتأثير المعادن الثقيلة كالنحاس والفضة والزئبق ، وبعض الكيميائيات النشطة كالكلور .

كما أن الانزيمات تتأثر بالملوحة العالية ، وبزيادة الضغط الأسموزى ، وبتعرضها للإشعاع خاصة الأشعة فوق البنفسجية عند الطول الموجى ٢٦٥٠ انجستروم .

﴿الباب التاسع – الفصل الثانى﴾

تنظيم الأيض الغذائى

المحتويـــات

الموضوع **الصفحة**

(الباب التاسع - الفصل الثانى)
تنظيم الأيض الغذائى
Regulation of Metabolism

مقدمـــة

يتضمن التحكم فى الأيض الغذائى الخلوى ، تنظيم النشاط الانزيمى بالخليـــة ، وهــذه عملية أساسية بالنسبة للكائنات وحيدة الخلية ، بسبب غيـــاب التحكـــم العصبـــى والـــهرمونى ، الموجود بأنسجة خلايا الكائنات الأخرى الأكثر رقياً .

وتحتوى خلية الكائن الدقيق على آلاف الانزيمات المختلفة ، كل منها يســـبب تفـــاعلاً معينا ، وكلها جميعاً تعمل فى تناسق ، لدرجة أن جميع التفاعلات الكيميائية تتم فى الخلية فـــى تناغم ، ويكمل الواحد منها الآخر ، وهذا يعنى أن الخلية تهدم وتبنى المـــواد اللازمـــة لنموهـــا الطبيعى بالكميات الملائمة ، وفى الوقت والمكان المناسب ، وهذا يتطلب التحكـــم الدقيـــق فـــى الأيض الغذائى للخلية .

وتتميز التفاعلات الإنزيمية بأنها تفاعلات عكسية ، بمعنى أن الانزيم الذى يساعد علـى إتمام تفاعل فى إتجاه معين ، يمكنه أيضاً تحت الظروف المناسبة ، إتمام التفاعل فـــى الاتجـــاه المضاد ، ويوضح التفاعل الانزيمى التالى ، حالة التفاعل العكسى ، كمـــا يوضـــح أن النواتـــج النهائية للتفاعل ، يمكن أن تنظم نشاط الانزيمات

$$C_9H_{18}O_2 + H_2O \xrightleftharpoons{\text{استريـــز}} C_4H_8O_2 + C_5H_{12}O$$

بيوتيرات الأمايل (استر) + ماء ⇌ حامض بيوتيريك + كحول امايل

فإذا بدأنا التفاعل السابق من الجهة اليسرى ، فإن الاستر وهو بيوتيرات الأمايل ، سيتحلل مائيـــا بواسطة إنزيم الاستريز ، إلى مكوناته وهى الحامض العضوى البيوتيريك ، وكحول الأمـــايل . ويستمر التفاعل من اليسار الى اليمين لفترة ، بعدها يقف التفاعل ، بسبب تكون كميات كافية من النواتج النهائية ، وهى الحامض والكحول ، ووصـــول طرفـــى المعادلـــة إلـــى نقطـــة اتـــزان Equilibrium point .

وإذا ماحدث العكس ، وبدأ التفاعل السابق من الجهة اليمنى ، ففـــى وجـــود الانزيـــم والظروف المناسبة ، يتكون الاستر ويستمر التفاعل من اليمين إلى اليسار ، حتى نصل لنقطـــة اتزان بين المواد المتفاعلة والمواد المنتجة ، فيقف التفاعل .

وعموماً ، فإنه عندما يبدأ التفاعل الانزيمى ، فإنه يستمر فى إتجاه واحد ، لأن نقطـــة الاتزان فى بداية التفاعل تكون بعيدة ، وإذا ماأمكن إزالة مادة أو أكثر من نواتج التفاعل ، فـــإن التفاعل سيستمر فى نفس الإتجاه ، بسبب عدم الوصول لنقطـــة الاتـــزان ، وتحـــت الظـــروف الطبيعية ، فإن التفاعلات الحيوية بالخلايا الحية يتم تنظيمها ، لتوجيه التفـــاعل الجـــارى لـــهذا الاتجاه أو لذلك الاتجاه ، بواسطة طرق التنظيم الانزيمى المختلفة .

تنظيم الأيض الغذائى بالخلية الميكروبية

تتم عملية تنظيم الأيض الغذائى بالخلية الميكروبية ، من خلال أولا تنظيم عملية تخليق الانزيمات Enzymes syntheses ، وثانيا بتنظيم أنشطتها Enzymes activities .

وتمتاز كلا من طريقتى التنظيم بالآتى

- يحدث التنظيم بواسطة مركبات ذات وزن جزيئى منخفض ، وهذه المركبات إما أن تكون داخل الخلية الميكروبية أثناء عملية الأيض ، أو تتواجد بالوسط المحيط بالخلية ، (مثل المحث Inducer) .
- يتضمن التنظيم اشتراك أنواع خاصة من البروتينات ، منها البروتينات المنظمة ، والانزيمات الألوستيرية .
- البروتينات المنظمة لاتؤثر على سرعة التفاعل ، ولكنها تنظم عملية تخليق بروتين الانزيم ، بارتباطها بمراكز متخصصة بالكروموسوم البكتيرى ، وبذلك تنظم عملية التعبير عن الجينات ، أى أنها تُحدث تنظيماً فى تخليق الرنا الرسول ، المسئول عن تخليق الانزيم .
- أما الانزيمات الألوستيرية ، فإنها تحتوى على مراكز الوستيرية خاصة بتنظيم النشاط الانزيمى ، تتحد مع المؤثرات المثبطة أو المنشطة ، فيحدث تنظيم لنشاط الانزيم ، من حيث تثبيط أو تنشيط التفاعل الذى يجريه ذلك الإنزيم .

وفيما يلى تفصيل لذلك

أولاً : تنظيم نشاط الإنزيمات : Regulation of enzymes activities

تتم عملية تنظيم نشاط الانزيمات ، بالتحكم المباشر فى التفاعلات التى تقوم بها الانزيمات بالخلية ، ويتم ذلك من خلال التحكم فى آلية التفاعل نفسه ، أو عن طريق ربط نواتج الأيض بعمليات أخرى .

وهذا التنظيم الانزيمى مسئول عن تنظيم أيض المركبات الوسطية فى مسار دورة الأيض الغذائى .

من نظم تنظيم نشاط الانزيمات

١ – تنظيم النشاط الانزيمى بالتحكم المباشر فى آلية التفاعل

Direct control of the catalytic mechanism

يحدث هذا التحكم ، كنتيجة لتغيير تركيز المواد المتفاعلة ، فمن المعروف أن زيادة تركيز مادة التفاعل ، تزيد من معدل سرعة الأيض الغذائى حتى حدود معينة ، كما أن تراكم نواتج التفاعل ، يبطىء من معدل سرعة التفاعل .

٢- تنظيم النشاط الانزيمى بالتحكم المباشر بالربط مع عمليات أخرى

Direct control through coupling with other processes

يتم هذا التحكم بالربط بين نواتج عملية الأيض الغذائى ، وبين بعض عمليات أخرى ، وذلك بواسطة **مواد الربط Ligands** . ومادة الربط عبارة عن جزىء له القدرة على أن يرتبط مع بروتين آخر كالانزيم ، دون أن يشارك فى التفاعل الذى يقوم به ذلك الانزيم .

ومواد الربط متعددة ، وهى لاتنتمى تركيبياً الى مادة التفاعل الخاصة بالانزيم ، غير أنها من خلال الدور الذى تلعبه فى عمليات أخرى ، فإنها تنظم مباشرة نشاط الانزيم ، فقد يحدث التنظيم بمادة ربط ، هى عبارة عن الناتج النهائى المتكون فى مسار دورة الأيض الغذائى كما فى حالة التثبيط بالتغذية الراجعة ، أو يحدث التنظيم ، بإضافة مواد كتلك الناتجة أثناء مسار دورة الأيض ، مثل الأحماض الأمينية فى تكوين البروتينات .

وكلا النوعين من نظم التنظيم ، سواء بالمواد المتكونة ، أو بالمواد المضافة ، لهما تأثير كبير فى تنظيم عملية الأيض الغذائى .

ونظم التنظيم الانزيمى بمواد الربط متعددة ، منها

أ – التثبيط بالتغذية الراجعة (المرتدة) : Feed back inhibition

مادة الربط فى هذا التنظيم الانزيمى ، هى الناتج النهائى فى مسار دورة الايض الغذائى ، إذ يستطيع المنتج النهائى كبح أو تثبيط تخليق الانزيم الأول فى سلسلة التفاعل ، فتتوقف سلسلة التفاعل ، ويقف بذلك تكون النواتج .

على سبيل المثال ، فإنه فى تمثيل البكتريا للبروتينات أو النيوكليوتيدات ، فان الميكروب يستخدم عملية التثبيط بالتغذية الراجعة ، لمنع تراكم المركبات الوسطية ذات الوزن الجزيئى الصغير مثل الأحماض الأمينية ، وكذلك البيورينات والبريميدينات ، فنجد مثلاً أن انزيم Glutamine synthetase الذى يقوم بتخليق الجلوتامين ، يثبط نشاطه بتسع مركبات مختلفة من نواتج تفاعل دورة الأيض .

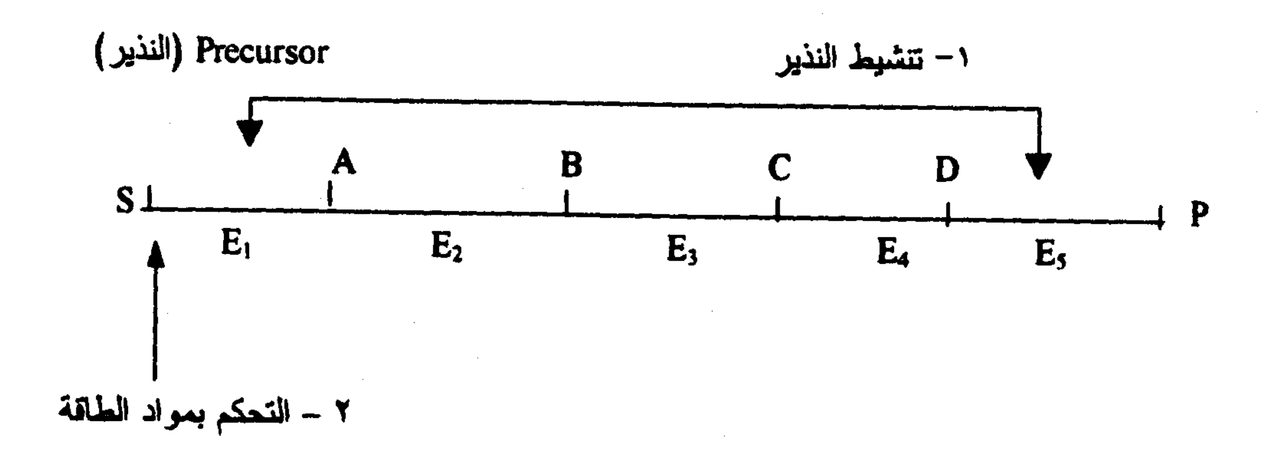
ب – التنشيط بواسطة النذير : Precursor activation

مادة الربط فى هذا التنظيم هى مادة النذير Precursor (وقد تسمى أيضا بالمادة الممهدة). ومادة النذير هى المادة التى تسبق تكوين مركب ما ، فى مسار دورة الأيض الغذائى ، وهى عادة ماتكون مادة مجهزة تضاف لوسط التفاعل ، كما فى الانتاج التخميرى ، وتستعمل كنقطة بداية لتكوين المنتج المطلوب .

ومادة النذير إذا ماوجدت بالوسط ، فإنها تُنشط الانزيم الأخير من مسار سلسلة التفاعل ، مؤدية الى تنشيط انزيمات سلسلة التفاعل وتكوين المنتج المطلوب ، ويسمى ذلك بتنشيط النذير [شكل ٩ (٢) – ١] . والمثال على ذلك ، إضافة مادة Phenyl acetic acid ، لانتاج البنسلين بواسطة فطر البنسليوم .

جـ - التحكم بمواد الطاقة: Energy-link control

مادة الربط فى هذا التنظيم الانزيمى ، هى مركبات الأدينايلات Adenylates (AMP , ADP , ATP ...) ، وغيرها من المواد التى تنظم التفاعلات المرتبطة بمواد لطاقة ، مثل $NADH_2$, Acetyl CoA ... etc. . إذ يلاحظ أن بعض الإنزيمات تكون حساسة للتركيزات المرتفعة أو المنخفضة من تلك المواد ، أو حساسة للنسبة بين مادتين منهما مثل نسبة ATP الى ADP ، فنجد مثلاً أن التركيزات العالية من ATP ، تثبط عمل الانزيمات المنتجة للطاقة ، فى نفس الوقت التى تشجع فيه عمل بعض الانزيمات المفتاحية فى مسار دورة الأيض . ويؤدى هذا النوع من التنظيم الانزيمى ، إلى وجود حالة إتزان بين التفاعلات المنتجة للطاقة ، وبين تلك التفاعلات المستهلكة للطاقة .



شكل ٩ (٢) - ١ : شكل تخطيطى يبين بعض نظم تنظيم النشاط الانزيمى

١- تنشيط النذير

مادة التفاعل ، وهى النذير ، تنشط الانزيم الأخير E_5 فى مسار دورة الأيض الغذائى ، فتنشط إنزيمات سلسلة التفاعل ، ويتكون الناتج النهائى P .

٢- التحكم بمواد الطاقة

مواد مرتبطة بالطاقة مثل AMP, ADP , ATP ، تنظم عمل الانزيمات الخاصة بسير التفاعلات المنتجة أو المستهلكة للطاقة .

ثانيا : تنظيم تخليق الإنزيمات : Regulation of enzymes syntheses

تتم عملية تنظيم تخليق الإنزيمات بالتحكم الوراثى ، عن طريق حث الانزيمات Induction (أى تخليقها) ، أو كبحها Repression (أى ايقاف تخليقها) .

وهذا التنظيم الإنزيمى مسئول عن تخليق بروتين الانزيم نفسه ، إذا ماتعرضت الخلية الميكروبية لوسط مختلف عن الوسط الذى كانت موجودة به . والانزيمات المخلقة قد تكون بنائية Constitutive ، أو مستحثة Inducible .

وعن طريق الحث ، يتم تنظيم تخليق إنزيمات الهدم ، بينما يتم عن طريق الكبح ، تنظيم تخليق انزيمات البناء كالانزيمات الخاصة بتكوين البيورين والبريميدين والأحماض الأمينية .

ولاتقوم الخلية الميكروبية بالحث على تخليق انزيمات الهدم ، إلا عند وجود مواد التفاعل التى تعمل عليها تلك الانزيمات ، كما أن الخلية الميكروبية توقف عملية تخليق الانزيمات بالكبح عند توفر النواتج النهائية لمسارات البناء ، حيث يقوم الناتج النهائى بالمسار الأيضى ، بايقاف تخليق كل إنزيمات المسار البنائى .

وعن طريق الحث والكبح ، يمكن للخلية الميكروبية ، توفير مايلزم لها من وحدات البناء ، وتوفير مايلزم من طاقة لتخليق مواد الأيض .

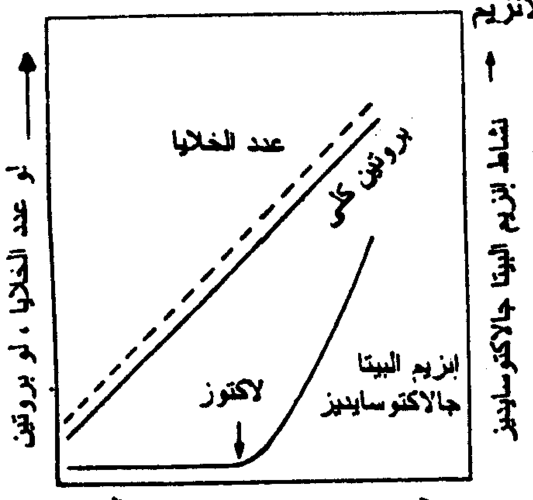
أ - تنظيم تخليق الإنزيمات بالحث : Induction

يعتبر إنزيم بيتا جالاكتوسايديز β-galactosidase من أكثر الإنزيمات المستحثة دراسة، وهو إنزيم تنتجه بكتريا الكولاى *E. coli* لتحليل سكر اللاكتوز الثنائى إلى جلوكوز وجالاكتوز ، والانزيم متخصص لجزىء D-galactose فى الوضع بيتا .

$$\text{Lactose} + H_2O \xrightarrow{\beta\text{-galactosidase}} \text{D-glucose} + \text{D-galactose}$$

وقد وجد أن تركيز الانزيم يزيد زيادة كبيرة بخلايا الكولاى ، عندما تنمو هذه الخلايا فى وجود اللاكتوز أو مشابهات اللاكتوز مثل الجالاكتوسيدات .

والشكل [٩ (٢) - ٢] يوضح تأثير إضافة سكر اللاكتوز بالبيئة على أعداد خلايا الكولاى الناتجة ، وعلى البروتين الكلى الخلوى ، وعلى نشاط الانزيم



شكل ٩ (٢) - ٢ :
تكوين انزيم البيتاجالاكتوسايديز بالحث

يبدأ تخليق انزيم البيتاجالاكتوسايديز بعد إضافة اللاكتوز الى البيئة
Ref. Schlegel, 1995.

الحث بنظام التتابع والتناسق

قد يحدث تخليق لإنزيمات الهدم بالحث بنظام يعرف باسم نظام التتابع والتناسق Coordinated and sequential induction system . ويحدث ذلك عند هدم مادة غذائية على خطوات ، بعدد من الانزيمات المتتابعة فى عملها ، مع تكوين عدد من النواتج الوسطية ، وذلك حسب النظام التالى

$$A \xrightarrow{a} B \xrightarrow{b} C \xrightarrow{c} D \xrightarrow{d} E \xrightarrow{e} P$$

وحسب طبيعة الميكروب وظروف نموه ، فانه يتم تخليق الانزيمات اللازمة لسلسلة التفاعل السابقة بالحث بنظام التتابع والتناسق ، وذلك بأكثر من نظام تنظيمى .

١ – نظام التتابع المطلق : Strictly sequential system

وفى هذا النظام التنظيمى ، تقوم المادة السابقة لوجود الإنزيم ، بدور المُحِث بنظام التتابع المطلق ، فالمادة A تحث على تخليق الانزيم a ، والمادة B تحث على تخليق الانزيم b ... وهكذا يتم تخليق الانزيمات اللازمة لسلسلة التفاعل ، بنظام التتابع المطلق ، ومن أمثلة البكتريا التى تتبع هذا النظام التنظيمى *Pseudomonas putida* .

ويعمل نظام التتابع المطلق ، على تحويل مادة التفاعل إلى نواتجها النهائية ببطء (مقارنة بنظام التناسق) ، وبالتالى إلى حدوث زيادة بطيئة فى معدل نمو الخلايا الميكروبية ، حيث لايحدث حث لتخليق الانزيم التالى (b مثلاً) ، إلا بعد وصول مادة التفاعل (B) ، السابقة لتخليق الانزيم b ، الى حد معين من التركيز .

٢ – نظام التناسق المطلق : Strictly coordinated system

وفى هذا النظام التنظيمى ، تقوم مادة التفاعل الأولى بدور المحث لكل الإنزيمات الخاصة بسلسلة التفاعل ، وذلك بتناسق ، فتحث المادة A على تخليق جميع الانزيمات من a حتى e اللازمة لسلسلة التفاعل بنظام التناسق المطلق ، ومن البكتريا التى تتبع هذا التنظيم الانزيمى *Acinetobacter calcoaceticus* عند هدمها لمادة 4-Hydroxybenzoate .

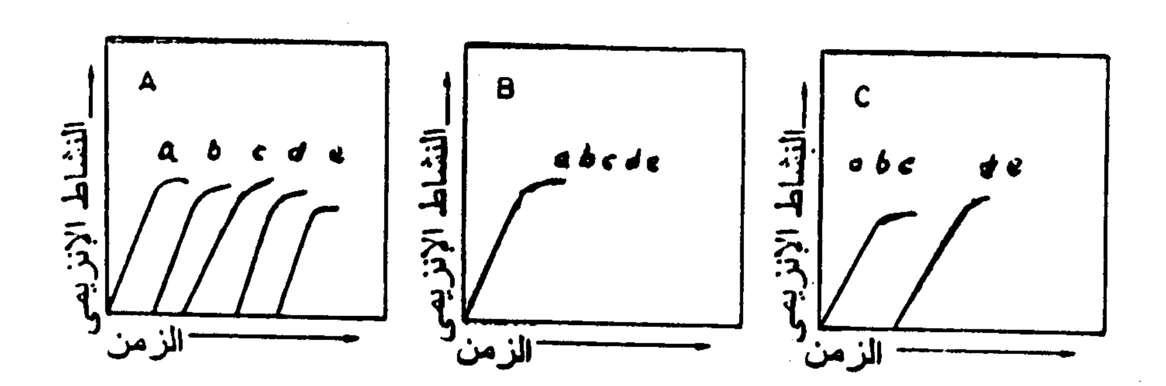
ويلعب هذا النظام دوراً هاماً فى عمليات الأيض الهدمى ، حيث يعمل على زيادة قدرة الخلايا على النمو فى وجود مادة التفاعل الأولى .

٣ – نظام يجمع بين نظامى التتابع والتناسق : Sequential - coordinated system

وفى هذا النظام التنظيمى ، تقوم مادة التفاعل الأولى A ، بتخليق إنزيمات a ، b ، c بنظام الحث المتناسق ، ثم بالتتابع يبدأ تأثير مواد D ، E لتخليق باقى الانزيمات (e & d) .

ومن البكتريا التى تتبع هذا التنظيم الانزيمى *Alcaligenes eutrophus* ، عند هدمها لمادة التربتوفان .

والشكل التالى [٩ (٢) – ٣] يوضح نظم الحث المختلفة



*شكل ٩ (٢) - ٣ :
الزمن الذى يستغرقه ظهور الانزيمات المستحثة ، بعد إضافة المادة المحثة فى بداية التجربة

A : نظام التتابع المطلق ، تظهر الانزيمات a ثم b و c و d و e بالتتابع
B : نظام التناسق المطلق ، تظهر الانزيمات كلها مرة واحدة
C : نظام التتابع - التناسق ، تظهر الانزيمات a ، b ، c بالتناسق ، وتظهر إنزيمات d ، e بالتتابع

a,b,c,d,e : الإنزيمات المتكونة بالبيئة ، بعد إضافة المادة المحثة فى بداية التجربة
* From Schlegel (1995), P. 542.

الحث بنظام المنتج المُحِث : Product induced system

بالإضافة إلى تخليق إنزيمات الهدم حثاً بنظام التتابع والتناسق ، فقد يتم حث إنزيمات الهدم بنظام آخر يعرف بنظام المنتج المحث ، قد يكون هذا المنتج المحث من نواتج التفاعل الأول ، بسلسلة التفاعل ، أو قد يكون من نواتج التفاعلات التالية بالسلسلة .

ومن أهم التفاعلات الحيوية ، التى تتم بنظام المنتج المحث ، هو تحول التربتوفان إلى كاتيكول حسب النموذج التالى ، وفى هذا النظام ، يقوم المركب الوسطى Kynurenine بدور المنتج المحث .

Tryptophane ⟶ Formyl Kynurenine ⟶ [Kynurenine] ⟶ Anthranilate ⟶ Catechol

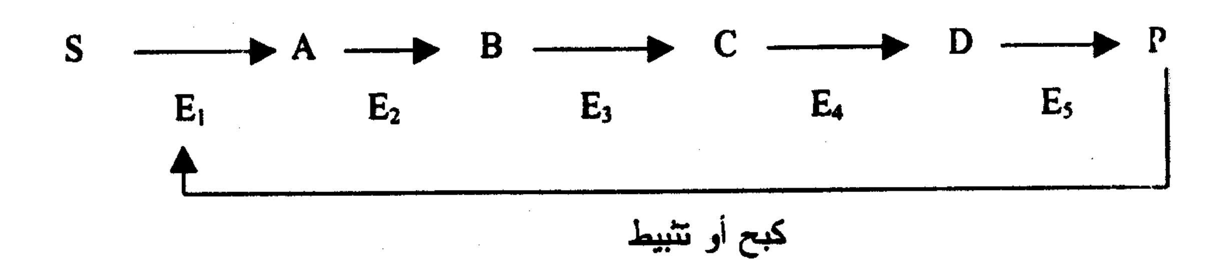
وفى هذا النموذج ، يلعب نظام المنتج المحث دوراً وقائيا هاماً لمنع حث تخليق إنزيمات الهدم ، بواسطة التربتوفان ، وهى المادة المطلوبة لتخليق البروتين ، حيث أنه لايتم هدم التربتوفان المضاف إلى البيئة الغذائية ، إلا بعد أن يمتص بداخل الخلية ، ويصل إلى تركيز عالى بها .

ب - تنظيم تخليق الانزيمات بالكبح (وقف التخليق)

الكبح بواسطة المنتج النهائى : End-product repression

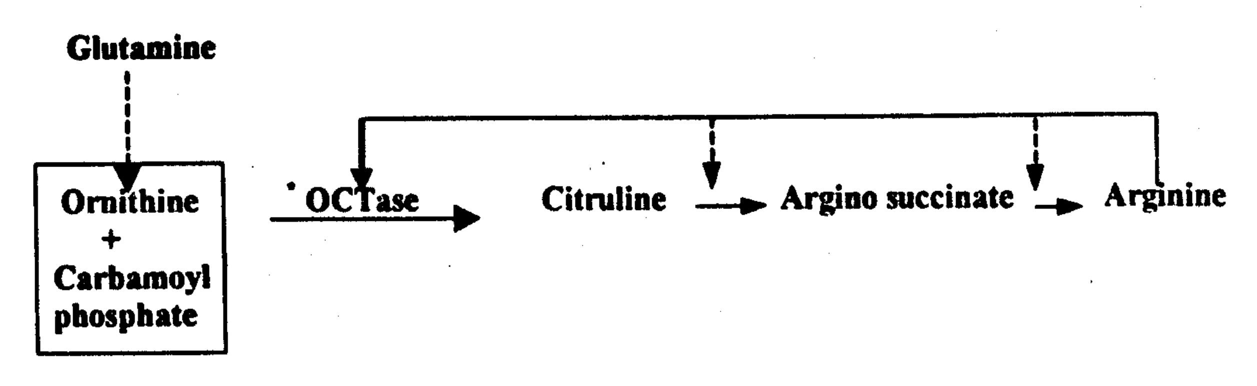
من النظم الخاصة بتخليق الإنزيمات ، نظام الكبح Repression ، ويسمى التنظيم الانزيمى ، فى حالة الكبح عند توفر النواتج النهائية لمسارات البناء ، باسم الكبح بواسطة المنتج النهائى ، حيث يوقف المنتج النهائى . تخليق الانزيم الأول فى سلسلة التفاعل ، ثم تتوالى كبح باقى الانزيمات ، وتتوقف تكوين النواتج .

ويتشابه هذا التنظيم مع مايعرف بالتثبيط بواسطة المنتج النهائى End-product inhibition ، وقد يطلق عليه أيضا التثبيط بالتغذية الراجعة (التثبيط بالتغذية المرتدة) Feed back inhibition حيث يقوم المنتج النهائى بتثبيط نشاط الانزيم الأول فى مسار سلسلة التفاعل ، فيقف تكوين النواتج ، كما يتضح من الشكل التالى [٩ (٢) - ٤] .



شكل ٩ (٢) - ٤ يبين
التثبيط (أو الكبح) بواسطة المنتج النهائى ، أى التثبيط بالتغذية الراجعة .
فالمنتج النهائى P يكبح ، أو يثبط ، الانزيم الأول E_1 فى مسار التمثيل ، وبذلك تتوقف تكوين النواتج من A حتى P

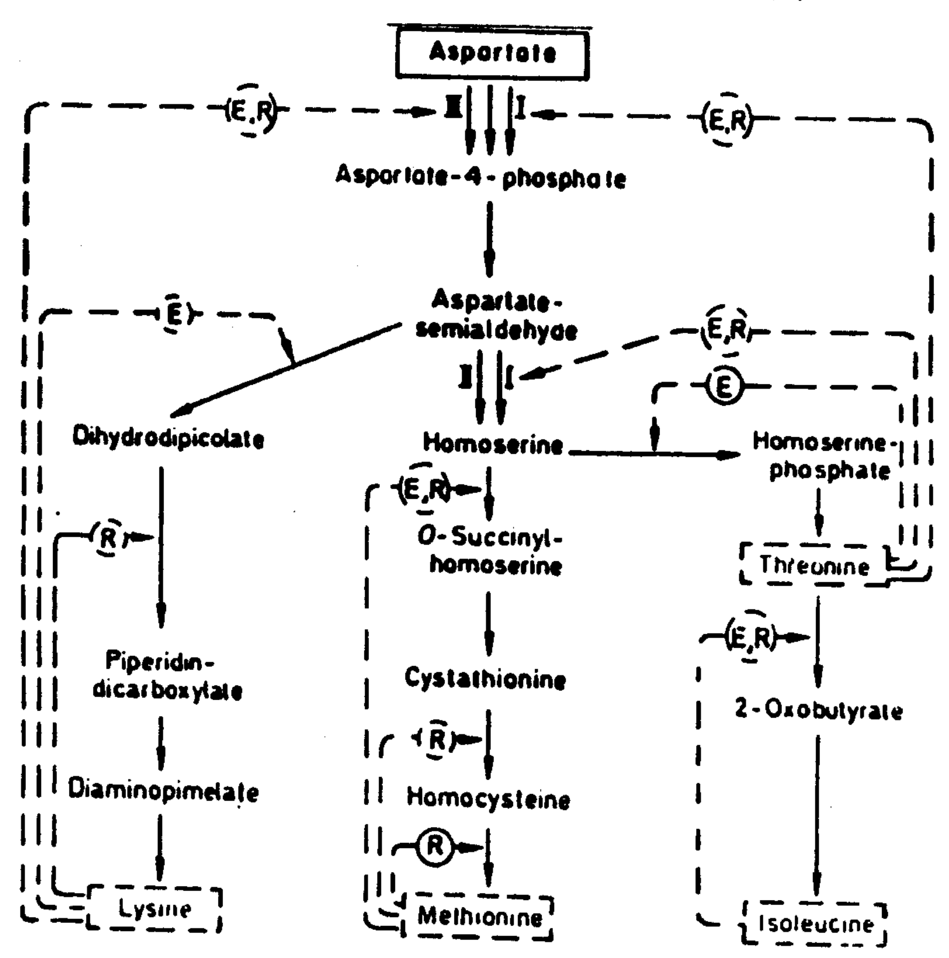
ومن أهم نظم تخليق الانزيمات بالكبح بواسطة المنتج النهائى ، تخليق الحامض الأمينى الأرجنين بواسطة بكتريا *E. coli* ، ويبدأ التفاعل من الحامض الأمينى الجلوتامين ، ويمر التفاعل عبر الأورنثين فى سلسلة من التفاعلات ، ليصل الى المنتج النهائى ، الأرجنين ، حسب المعادلة العامة التالية



* Ornithine carbamoyl transferase

في التفاعل السابق ، يؤخذ انزيـــم *OCTase, Ornithine carbamoyl transferase كدلالة على مسار تخليق الأرجنين ، وقد لوحظ أنه عند زيادة تركيز مادة الأرجنين ، عـــن حـــد معين ، فإنه يحدث كبح لتخليق إنزيم الـــ OCTase ، ويتوقف مسار سلسلة التفاعل .

ومن أمثلة نظم التنظيم الانزيمى ، سواء بنظام الكبح أو التثبيط بواسطة المنتج النهائى ، مـــاتقوم به بكتريا *E. coli* عند تمثيلها الحيوى للأحمـــاض الأمينيـــة التابعـــة لمجموعـــة الاســـبارتات Aspartate group ، مثـــل أحمـــاض Isoleucine, Lysine, Methionine & Threonine ، ويوضح ذلك بالشكل [٩ (٢) - ٥] التالى



شكل ٩ (٢) - ٥ : تنظيم التخليق الحيوى للأحماض الأمينية التابعة لمجموعة الاسبارتات في بكتريا *Ecoli* .
--- تبين الخطوط المتقطعة التفاعلات الانزيمية المنظمة بنظام التثبيط (E) ،
أو بنظام الكبح (R) بواسطة المنتج النهائى .

E : End-product inhibition التثبيط بالمنتج النهائى
R : End-product repression الكبح بالمنتج النهائى

الكبح الهدمى : Catabolic repression

قد يحدث تخليق للإنزيمات بنظام الكبح الهدمى ، ويحدث ذلك عند نمو البكتريا فى بيئة تحتوى فى وقت واحد ، على مادتين قابلتين للهدم ، أحدهما أسهل تمثيلاً من الأخرى ، مثل نمو بكتريا *E. coli* فى بيئة تحتوى على كل من الجلوكوز واللاكتوز ، إذ تقوم البكتريا أولاً باستهلاك الجلوكوز ، وهى المادة التى تعطى نمواً أكبراً ، لأنها الأسهل تمثيلاً ، والأسرع فى إنتاجها للطاقة عن غيرها ، ولاتبدأ بكتريا الكولاى بتخليق الانزيم الهادم لسكر اللاكتوز (β-galactosidase) ، إلا بعد نفاذ الجلوكوز من البيئة ، وعلى ذلك فإنه فى وجود كلا من الجلوكوز واللاكتوز فان الكولاى تكبح تخليق الانزيمات المحللة للاكتوز ، ويسمى هذا التنظيم الانزيمى بنظام الكبح الهدمى .

وكما يحدث هذا التنظيم الانزيمى ، فى وجود المواد الكربونية المنتجة للطاقة ، فإنه يحدث أيضا للانزيمات المحللة للمواد النتروجينية ، إذا توفرت مصادر نتروجينية متعددة بالبيئة، أحدها أكثر تفضيلاً عن غيره للميكروب ، مثل الأمونيا والجلوتامين .

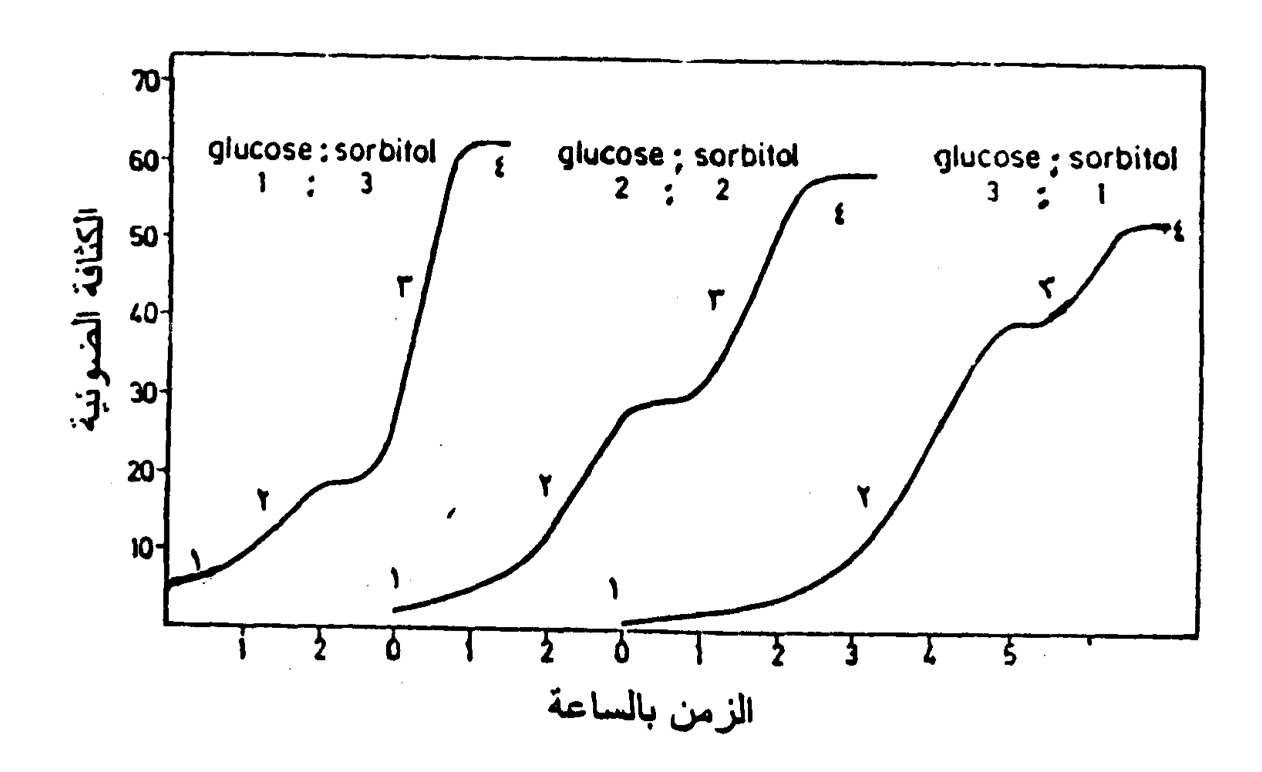
ويعمل هذا التنظيم الانزيمى ، على تمكين الخلية الميكروبية ، من توفير الطاقة، بدلاً من استهلاكها فى تخليق إنزيمات لإجراء تفاعلات أقل كفاءة .

ولايعتمد نظام الكبح الهدمى للانزيمات فقط على وجود البادىء المناسب ببيئة النمو ، ومصدر الطاقة ، بل يعتمد أيضا على وجود النتروجين الميسر فى الوسط الغذائى ، لأن نقص النتروجين الميسر، قادر على أن يضاد جزئيا تأثير الكبح الهدمى .

النمو ذو المرحلتين : Diauxic growth

تفسر عملية الكبح الهدمى ، ظاهرة حدوث النمو ذو المرحلتين للميكروب ، إذ يلاحظ أن الميكروبات النامية فى وسط ، يحتوى على أزواج من المواد التى تستخدم كمصدر للكربون كما فى حالة نمو بكتريا *E. coli* فى وسط يحتوى على جلوكوز ولاكتوز ، أو جلوكوز وخلات، أو جلوكوز وسوربيتول ، ومع حدوث الكبح الهدمى ، فإنه لايتم استهلاك مصادر الكربون بالتزامن ، بل تستهلك تلك المصادر بالتوالى ، حيث يستهلك الجلوكوز أولاً .

وعلى ذلك ، فإن بكتريا الكولاى النامية فى هذا الوسط ، تعطى منحنى نمو ، يختلف عن منحنى النمو العادى ، وذلك فى أن له مرحلتين من مراحل طور النمو اللوغاريتمى Two-lag phase ، أى ثنائى فى طور النمو اللوغاريتمى ، ويفصل بين مرحلتى النمو اللوغاريتمى ، مرحلة طور لاجى ، وتعرف هذه الظاهرة باسم Diauxy phenomenon ويسمى المنحنى الناتج باسم منحنى أطوار النمو ذو المرحلتين Diauxic curve ، وهى الظاهرة التى لاحظها Jacques Monod عام ١٩٤٢ ، ويوضحها الشكل [٩ (٢) - ٦] التالى



شكل ٩ (٢) - ٦ : منحنى أطوار نمو ذو مرحلتى نمو لوغاريتمى Diauxic curve

لبكتريا *E. coli* نامية فى بيئة مغذية محتوية على جلوكوز وسوربيتول بنسب موضحة بالشكل .

أطوار النمو

١ - اللاجى
٢ - اللوغاريتمى الأول (مرحلة استهلاك سكر الجلوكوز)
٣ - اللوغاريتمى الثانى (مرحلة استهلاك سكر اللاكتوز)
٤ - الثبات

لاحظ أنه ينفصل بين الطور اللوغاريتمى الأول والثانى ، مرحلة طور لاجى

ميكانيكية التنظيم الانزيمى : Mechanism of enzymatic regulation

تحدث عملية تخليق الانزيمات ، سواء بالحث لتكوينها أو بـــالكبح لايقـــاف تخليقـــها ، بميكانيكية واحدة ، فسرها F. Jacob and J. Monod بنموذج الأوبرون ، التى فسرا بها عمـــل الجينات التى تشفر لتخليق الانزيمات ، التى تحتاجها بكتريا الكولاى لهدم سكر اللاكتوز .

ويقع الأوبرون بكروموسوم الخلية الميكروبية . وتشتمل منطقة الاوبرون ، على مجموعة مـــن الجينات ، تضم جينات البناء وجينات التنظيم ، والمشغل الوراثى ، أى الأوبرون ، ويتحكم فـــى عمل الأوبرون ، جين عامل واحد يسمى (O) Operator .

وعلى ذلك يتطلب تخليق الانزيم بالخلية الميكروبيـــة ، أن يوجـــد علـــى كروموســـوم الميكروب ، جين بنائى Structural gene ، وجين منظم Regulator gene ، ومشغل وراثـــى ، أوبرون Operon ، وجين عامل (O) Operator .

* **الجين البنائى** ، هو الذى يعطى الشفرة ، الخاصـــة بتخليـــق بروتيـــن الانزيـــم ، وتحديـــد تخصصه، طبقاً للشفرة المعطاه ، المعبرة عن الأحماض الأمينية ونظام تتابعها .

وتنقل الشفرة من الجين البنائى ، الى الخلية ، باستنساخ الرنا الرسول m-RNA ، ولكل انزيم أو جزىء بروتين ، أو لكل سلسلة ببتيدية فى بعض الحالات ، الجين البنائى الخاص به .

* **الجين المنظم** ، هو الذى ينظم وراثيا تخليق أو عدم تخليق الانزيم ، ويعمل هذا الجيـــن فـــى مرحلة الاستنساخ ، وليس فى مرحلة الترجمة .

* **الأوبرون** ، هو الذى يتحكم فى نظام التتابع الخاص بتخليـــق الانزيمـــات ، ليتوافـــق تكـــون الانزيمات مع خطوات التفاعلات الجارية بدورة الايض الغذائى .

* **الجين العامل** ، هو الذى يتحكم فى عمل المشغل الوراثى (الاوبـــرون) ، ويشـــغل الجيـــن العامل منطقة خاصة فى الدنا ، تقع فى بداية الجين البنائى .

وعند الجين العامل ، تبدأ الخطوات الخاصة بتخليق الرنا الرسول .

الحث والكبح : Induction and Repression

تتكون بعض الانزيمات كما ذكر سابقاً عن طريق الحث ، وهذا يتطلب وجود مُحِـــث Inducer . والمحث ، مادة ذات وزن جزيئى صغير (مثل الأحماض الأمينية والسكريات) ، قـــد تكون مادة التفاعل ، أو قد تكون مركب مرتبط بمادة التفاعل التى يعمل عليها الإنزيم .

وقد يتوقف تخليق بعض الانزيمات ، بسبب الكبح ، ويحدث هذا نتيجة وجود مواد ذات وزن جزيئى صغير أيضا ، قد تكون من نواتج التفاعل ، أو مركب مرتبط بالتفـــاعل ، يعمـــل كمساعد للكابح Co- repressor .

يتحد مساعد الكابح ، مع الكابح الذى كونه الجين المنظـــم ، ليتكـــون الكـــابح الكـــامل Complete repressor ، وهذا يتحد مع الجين العامل (O) ، وهو المركز الذى يتحد به الكـــابح الكامل ، ونتيجة لذلك الاتحاد ، يثبط عمل الاوبرون وعمل الجين البنائى ، فلا يحـــدث بالتـــالى استنساخ لجينات البناء ، أى لايتكون الرنا الرسول .

ويمكن فهم عملية التحكم الوراثى ، فى تخليق الانزيمات أوعدم تخليقها ، من النمـوذج المتعلق بالمشغل الوراثى ، الخاص بتخليق انزيم اللاكتيز (أوبرون اللاكتيز ، أوبـرون الـلاك Lac operon) ، فى بكتريا *E. coli* ، وذلك كما يتضح من أشكال [٩ (٢) - ٧ و ٨ و ٩] .

فمن أشكال ٩ (٢) - ٧ و ٨ و ٩ ، نلاحظ

* جينات البناء z, y, a ، الخاصة بتكوين بروتينات الانزيمات الثلاثة المطلوبة فى هذا النظـام، مرتبطة مع بعضها ، على كروموسوم *E. coli* .
* فى عدم وجود تنظيم لانتاج انزيمات ، فإن معدل أنتاج الانزيمات ، يكون ثابتـاً ، ويعتمـد فقط على جينات البناء z, y, a ، وعلى مستوى الأحمـاض الأمينيـة بالخليـة ، والمـواد المنشطة .
* فى وجود تنظيم لانتاج الانزيمات ، فإنه يتحكم فى ذلك جينات التنظيم i, p, o ، والكـابح والمحث (سكر اللاكتوز) .

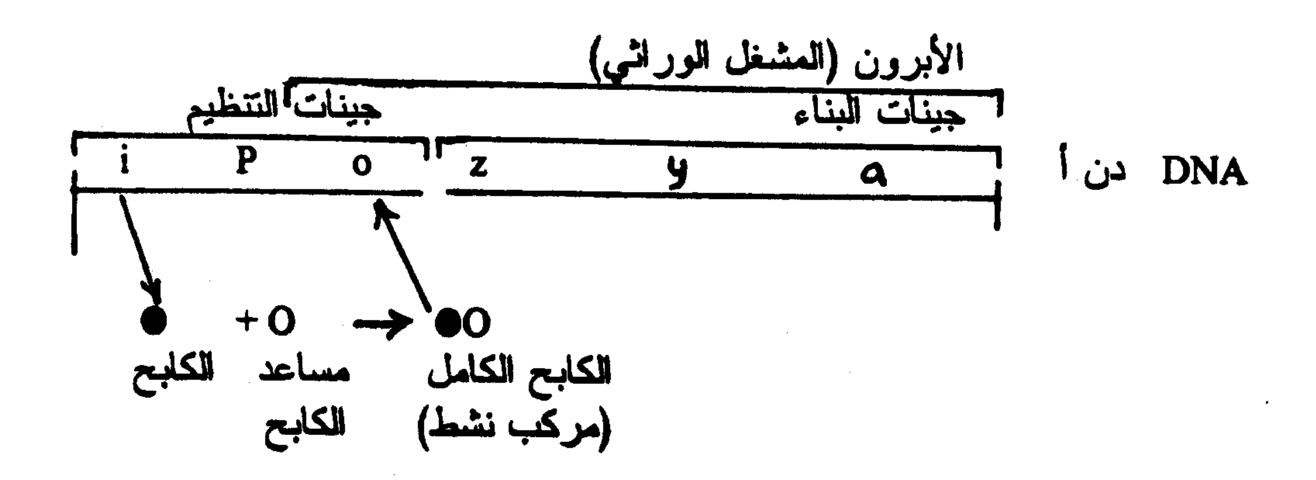
z : جين بناء انزيم اللاكتيز Lactase, β-galactosidase ، وهو الانزيم الذى يقـوم بتحليـل سكر اللاكتوز الى جلوكوز وجالاكتوز .

y: جين بناء الناقل البرمييز β-galactosidase permease ، وهو الذى ينقل سكر اللاكتـوز الى داخل خلية الميكروب .

a : جين بناء إنزيم Thiogalactoside transacetylase .

وجينات هذه الانزيمات الثلاثة ، مرتبطة مع بعضها على كروموسوم بكتريا *E. coli* .

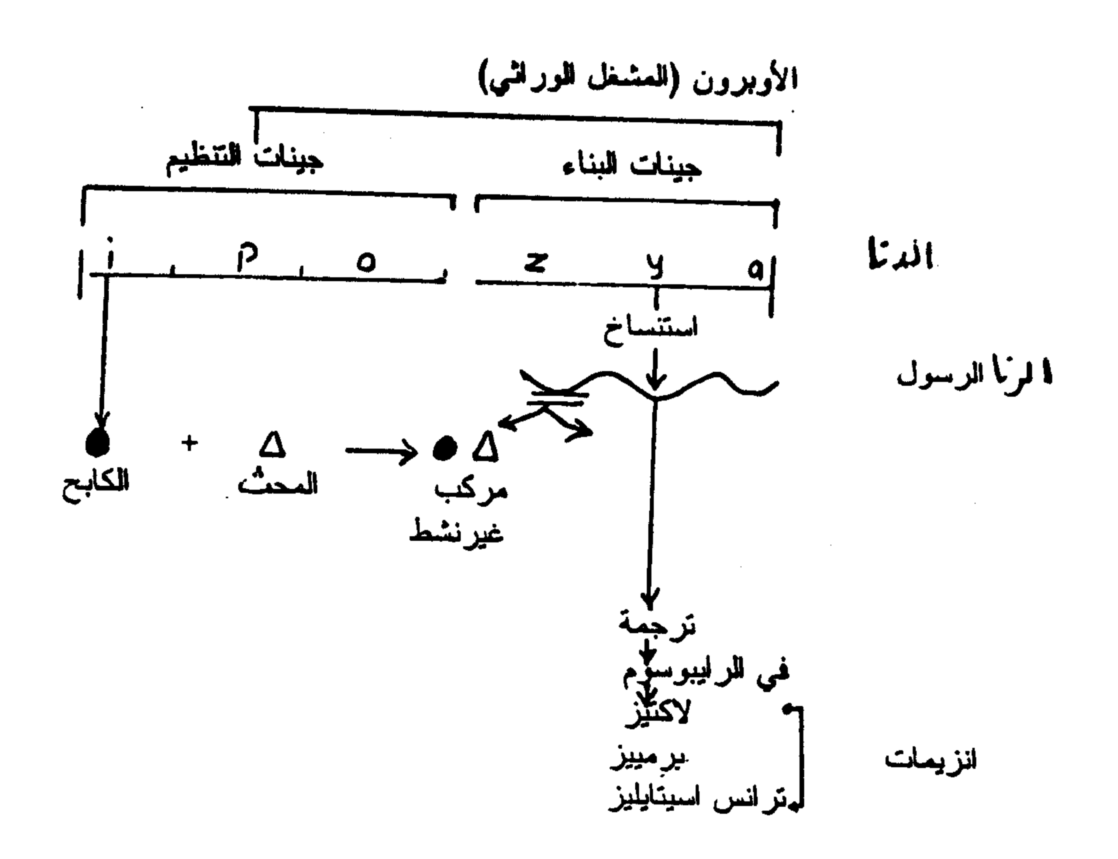
نظام التحكم الوراثى فى انتاج انزيم اللاكتيز بوسطة أوبرون اللاكتيز Lac operon فى بكتريا *E. coli* .



شكل ٩ (٢) - ٧ : كبح تكوين الرنا الرسول .

من الشكل [٩ (٢) - ٧] - كبح تكوين الرنا الرسول ، نلاحظ

- يُكوِّن الجين المنظم (i) ، الكابح .
- فى غياب المحث (سكر اللاكتوز) ، يتحد الكابح مع مساعد الكابح (سكر الجلوكوز أو الجلاكتوز) ، ليتكون الكابح الكامل ، وهو مركب نشط .
- يتحد الكابح الكامل مع الجين العامل (O) ، فيحدث تثبيط لأوبرون اللاك lac operon ، ولجينات البناء التالية فى الموقع ، وهى z, y, a .
- لايحدث استنساخ لجينات البناء z, y, a ، أى لايتكون الرنا الرسول .



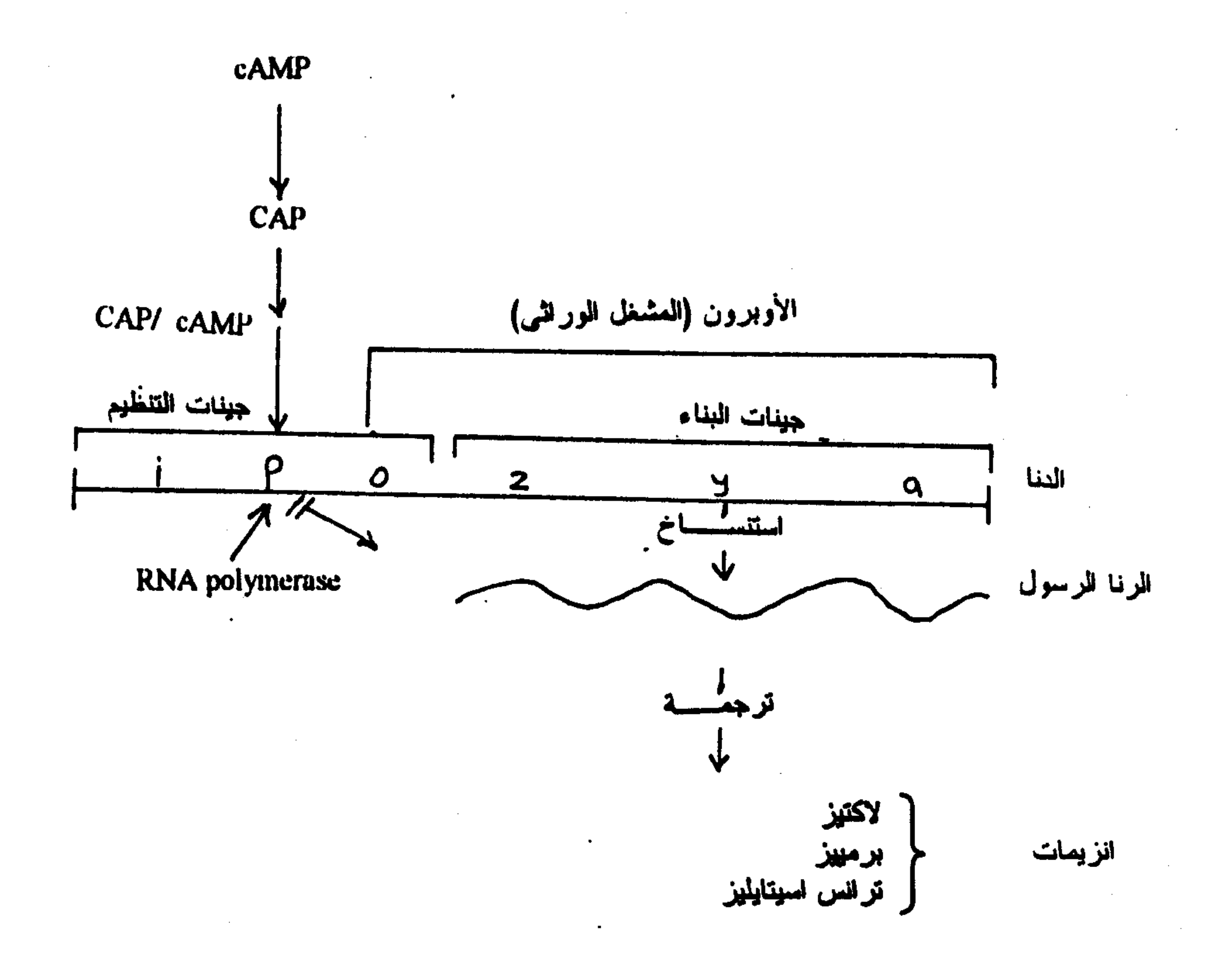
شكل ٩ (٢) - ٨ : حث تكوين الرنا الرسول

ومن الشكل [٩ (٢) - ٨ : حث تكوين الرنا الرسول ، نلاحظ

- يكون الجين المنظم (i) ، الكابح
- فى وجود المحث وهو سكر اللاكتوز ، يتحد الكابح مع المحث ، ليتكون مركب غير نشط غير قادر على الاتحاد مع الجين العامل (O) ، فلا يحدث تثبيط للأوبرون .
- يعمل أوبرون اللاكتيز lac operon ، ويُنشّط جينات البناء فى المواقع z, y, a .
- يحدث استنساخ لجينات البناء z, y, a ، أى يتكون الرنا الرسول .
- تحدث ترجمة للرنا الرسول ، لتتكون الانزيمات الثلاثة المرتبطة بنظام أوبرون اللاكتيز .
- ويتم ترجمة [1] الشفرة الوراثية الموجودة على الرنا الرسول ، فى جهاز تكوين البروتين بالخلية ، وهو الرايبوسومات ، حيث تتكون السلاسل الببتيدية ، المكونة لبروتين الانزيم .

---

[1] راجع التخليق الحيوى للإنزيمات بالباب التاسع ، الفصل الثالث ، ص ٧٠٥ ومايليها .



شكل ٩ (٢) - ٩ : التحكم الإيجابى لتخليق إنزيم اللاكتيز

ومن الشكل [٩ (٢) - ٩] - التحكم الإيجابى لتخليق إنزيم اللاكتيز ، نلاحظ

- فى وجود Cyclic Adinosine 3`, 5` mono phosphate, (cAMP) ، تنشط المادة البروتينية Catabolite gene activator protein, (CAP) ، ويتكون المركب CAP-cAMP
- المركب CAP-cAMP ينشط الجين المنظم (الجين المحرض)Promoter، الموجود على الدنا .

ويلاحظ من الشكل

- P هو مكان الاتحاد مع انزيم RNA polymerase وهذا الجين مسئول عن تنشيط الأوبرون.
- يتحد P المنشط مع الـــ RNA polymerase ، فينشط الاوبرون ، (المشغل الوراثى لأوبـــرون اللاكتيز Lac operon) فتنشط جينات البناء فى المواقع z, y, a ، وتعمل كقالب .
- يحدث استنساخ لجينات البناء z, y, a ، أى يتكون الرنا الرسول .
- تحدث ترجمة للرسول ، فتتكون الانزيمات الثلاثة المرتبطة بأوبرون اللاكتيز .
- عند إضافة المحث وهو سكر اللاكتوز ، إلى بيئة بكتريـــا *E. coli* ، فـــإن معـــدل تخليـــق الانزيمات الثلاثة ، يزيد بمعدل ألف مرة .

التحكم السالب والتحكم الموجب فى نظام الكبح الهدمى

تتضمن جينات التنظيم الخاصة بأوبرون اللاكتيز [أشكال ٩ (٢) ٧ و ٨ و ٩] ببكتريا الكولاى *E. coli* ، على نوعين من البروتينات المنظمة .

- الجين الكابح Repressor (i) ، الذى عندما ينشط ويتحد بالأوبرون فإنه يوقف نشاط الأوبرون [شكل ٩ (٢) - ٧] .
- الجين المحرض Promoter, P ، الذى عندما ينشط ويتحد بالأوبرون ، فإنه ينشط الأوبرون [شكل ٩ (٢) - ٩] .

يحتوى الجين المحرض P (Promoter) ، على موضعى ارتباط منفصلين ، أحدهما خاص بالارتباط بإنزيم RNA-polymerase، والثانى خاص بالارتباط بالمركب CAP-cAMP، وينتج مركب CAP - cAMP ، من اتحاد أدينوزين أحادى الفوسفات الحلقى Cyclic adinosine monophosphate, (cAMP) مع البروتين المنظم المسمى بالبروتين المنشط بمواد الهدم Catabolite activator protein, CAP ، وقد يسمى هذا أيضا بالبروتين المستقبل بمواد الهدم Catabolite receptor protein, CRP .

ويتعرض المشغل الوراثى لإنزيم اللاكتيز ، اللاك أوبرون Lac operon ، فى بكتريا الكولاى ، لنوعين من التحكم كلاهما يؤثر على تخليق إنزيم اللاكتيز ، أحدهما هو التحكم السالب ، الذى يتحكم سلباً ، بمنع المشغل الوراثى من تخليق الانزيم ، والآخر هو التحكم الموجب ، الذى يتحكم إيجاباً بحث المشغل الوراثى على تخليق إنزيم اللاكتيز .

التحكم السالب : Negative control

فى هذا النظام [شكل ٩ (٢) - ٧] يحدث التجكم السالب فى اللاك أوبرون (أى عدم الحث على تخليق انزيم اللاكتيز) ، نتيجة إتحاد البروتين المنظم الكابح Repressor النشط بالأوبرون ، فيتوقف اللاك أوبرون عن العمل ، وبالتالى لايحدث استنساخ ولاتخليق لإنزيم اللاكتيز .

ويحدث التحكم السالب طالما وجدت مادة الجلوكوز فى بيئة نمو الكولاى ، وطالما أيضا كانت مادة الحث وهى اللاكتوز ، غير متوفرة بالبيئة . فإذا أضيف اللاكتوز إلى بيئة الكولاى ، فإن اللاكتوز يعمل كمحث خارجى External inducer ، ويدخل إلى داخل خلية الكولاى بواسطة البرمييز ، ليعمل كمحث داخلى Internal inducer ، وبذلك ينفك إرتباط الأوبرون من الكابح ، وينشط اللاك أوبرون ، الذى يحث على تخليق انزيم اللاكتيز .

التحكم الموجب [شكل ٩ (٢) - ٩] : Positive control

فى هذا النظام ، يحدث التحكم الموجب فى اللاك أوبرون (أى الحث على تخليق انزيم اللاكتييز) ، نتيجة قيام مركب بروتينى منظم ، يتكون من CAP - cAMP ، بالاتحاد مع الجين المحرض Promoter, P الموجود بجينات التنظيم ، فينشط الجين المحرض ، ويتحد مع RNA polymerase ، مما ينشط اللاك أوبرون ، محثاً إنزيمات البناء على استنساخ الرنا الرسول m-RNA ، وتخليق إنزيم اللاكتيز .

cAMP يعمل كجزىء مؤثر ، يحدد فعالية CAP ، ويتحد cAMP مع CAP مكونـــاً مركب CAP – cAMP ، وبدون تكون مركب CAP – cAMP واتحاده مع المحرض P ، فإنـــه لايحدث تنشيط للأوبرون ، ولاتخليق للانزيم ، وعلى ذلك ، فإن مركب CAP – cAMP يمارس تحكماً موجباً على اللاك أوبرون ، بدليل أنه يمكن تثبيط عملية الاستنساخ بإضافة مادة الجلوكوز الى بيئة النمو ، التى تقلل من تركيز cAMP بالخلية .

الكبح الهدمى لأوبرون اللاك : Catabolite repression of lac operon

تركيز مادة cAMP بداخل خلية الكولاى كما ذكر سابقاً ، عامل مؤثر على نشاط اللاك أوبرون ، ويتناسب هذا التركيز مع وجود أو غياب الجلوكوز ، حيث تتسبب التركيزات العاليـــة من الجلوكوز ، فى خفض تركيز مادة cAMP بداخل الخلايا ، ويعود السبب فى ذلـــك إلـــى أن وجود الجلوكوز ، أو وجود بعض مركبات الأيض الأخرى التى تتكون فى وجـــود تركـــيزات كافية من الجلوكوز ، يؤدى إلى تثبيط نشاط انزيم Adenyl cyclase ، وهذا الإنزيم هو الـــذى يحفز تكوينcAMP من ATP حسب المعادلة العامة

$$\text{ATP} \xrightarrow{\text{Adenyl cyclase}} \text{cAMP} + \text{ppi}$$

ونتيجة لتأثير وجود الجلوكوز بالبيئة ، الذى يؤدى الى خفض التركيز الخلـــوى لمـــادة cAMP ، وإلى عدم قدرة مادة CAP على الارتباط مع المحرض P ، وبالتالى الى عدم قـــدرة P على الاتحاد مع RNA polymerase ، فإن ذلك يسبب كبحاً لنشاط اللاك أوبـــرون ، وتثبيطـــاً لتخليق إنزيم اللاكتيز ، ويعرف ذلك بنظام الكبح الهدمى لأوبرون اللاك .

تغيير نشاط الانزيم بنظام التعديل المتكافىء

Alteration of enzyme activity by covalent modification

يعتبر التعديل المتكافىء نوعا آخرا من أنواع التنظيم الانزيمى الذى تمارســـه بعـــض الكائنات ، لإحداث زيادة أو نقص فى سرعة التفاعل الانزيمى ، ويحـــدث التعديـــل المتكـــافىء نتيجة الأدنلة Adenylation بإضافة مجموعة أدينايل ، أو الاستلة Actylation بإضافة مجموعة أسيتايل ، أو الفسفرة Phosphorylation بإضافة مجموعة فوسفات ، الى بروتين الإنزيم .

على سبيل المثال ، فإننا نجد أن بكتريا *E. coli* قـــادرة علـــى كبـــح تخليـــق إنزيـــم Glutamine synthetase ، كما يمكنها أيضا خفض نشاط هذا الانزيم بمقدار ٨٠ – ٩٠% لعـــدة دقائق ، بإضافة NH_4^{1+} الى الوسط الغذائى للبكتريا . ويعزى الانخفاض فى نشاط الانزيم ، الـــى التعديل الكيميائى الذى حدث للصورة النشطة للانزيم (a) ، وماترتب عليه من حدوث أدنلة لـــه وتحوله الى الصورة غير النشطة (b) ، ويعود الانزيم الى نشاطه مرة أخرى بـــنزع مجموعـــة الادينايل منه .

﴿الباب التاسع – الفصل الثالث﴾

التخليق الحيوى للإنزيمات واستخداماتها

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة

المحتويـــات

الصفحة

الموضوع

(الباب التاسع - الفصل الثالث)
التخليق الحيوى للإنزيمات واستخداماتها

التخليق الحيوى للإنزيمات : Enzyme Biosynthesis

تخليق الإنزيم فى جميع الكائنات الحية ، عملية مستمرة ، سواء أكانت الخلايا فى حالة تكاثر ، وذلك لتكوين المحتويات الجديدة للنمو ، أو كانت الخلايا فى حالة عدم تكاثر ، وذلك لتعويض الفاقد من الانزيمات ، وتتوقف الحياة إذا توقفت عملية تخليق الانزيمات بالكائن .

يتضمن التخليق الكامل للانزيم النشط ، بناء كل من بروتين صميم الانزيم ، وبناء مكونات مرافق (قرين) الانزيم ، وقد لايستطيع الكائن فى بعض الحالات ، تخليق كل مكونات مرافق الانزيم ، وفى هذه الحالة ، يجب إضافة هذه المكونات الى الوسط .

ويتم تخليق الانزيم عادة ، داخل الخلية الحية ، وقد يتم ذلك فى بعض الحالات بالمعمل، وذلك فى شرائح الانسجة ، وفى خلايا البكتريا المهشمة ، وحتى فى المستخلصات الخالية من خلايا الأنسجة الحيوانية .

ويتم تخليق الانزيمات بالخلايا الحية تحت ظروف التنظيم ، حيث يسيطر على هذه العملية نوعين من التحكم .

- **تحكم وراثى : Genetic control**

يتم هذا التحكم ، عن طريق جينات النواه ، فالانزيم - كأى بروتين - لايخلق بالخلية ، إلا إذا وجدت الجينات الخاصة بتخليقه ، ومن المعروف أن لكل إنزيم ، (وفى بعض الحالات لكل سلسلة ببتيدية) ، الجين البنائى الخاص به على كروموسوم النواه ، فاذا تغيبت هذه الجينات نتيجة التلف أو التطفر ، فإن الإنزيم لايتكون .

- **تحكم أيضى : Metabolic control**

يتم هذا التحكم عن طريق مواد الأيض الغذائى ، سواء مواد التفاعل Substrates ، أو المواد المنتجة Products .

فإنتاج الانزيمات يتأثر بمواد الأيض ، من حيث النوع والتركيز ، سواء أكانت مواد تفاعل أو مواد منتجة . ويتطلب تخليق بعض الانزيمات ، وجود المحث بالبيئة ، كما قد يتوقف تخليق بعض الانزيمات لوجود مواد مثبطة ، وذلك كما يحدث فى الميكروبات (راجع التنظيم الانزيمى ، بالفصل الثانى من هذا الباب) .

وقبل الكلام عن خطوات تخليق بروتين الانزيم ، سنأخذ فكرة عن أشكال البروتين التركيبية ، وأنواع أحماض الرنا ، التى تلعب دوراً رئيسيا فى عملية التخليق .

أشكال البروتين التركيبية

الوحدات البنائية للبروتين ، هى الأحماض الأمينية ، والتى يبلغ عددها واحدا وعشرون حمضا أمينيا . ويتكون البروتين من سلاسل ببتيدية طويلة ، تتكون من أحماض أمينية ، متصلة ببعضها بروابط ببتيدية - CO-NH - ،

وتأخذ السلاسل الببتيدية أربعة أشكال تركيبية [أشكال ٩ (٣) - أ ، ب ، جـ ، د ، هـ] هى

١- الشكل البنائى الأولى Primary structure ، السلاسل المستقيمة الطولية Straight chains

يدل هذا البناء ، على عدد سلاسل الببتيدات الداخلة بالتركيب ، كما يوضح تسلسل الأحماض الأمينية فى كل سلسلة ، وأماكن وجود الروابط ثنائية الكبريتيد .

ويعتبر هذا الشكل البنائى ، هو الشكل الابتدائى للسلسلة الببتيدية بعد تكونها ، إذ تأخذ السلسلة الشكل المستقيم الطولى (Straight chain) ، وهو يمثل الترتيب الطولى للأحماض الأمينية .

٢- الشكل البنائى الثانوى Secondary structure ، السلاسل الحلزونية Coiled chain

يدل هذا البناء على الترتيب اللولبى لكل سلسلة من السلاسل الببتيدية ، وينتج هذا التركيب من الارتباط بالروابط الايدروجينية ، داخل الجزيئات وعلى طول السلسلة .

وفى هذا الشكل ، تأخذ السلسلة الببتيدية ، الشكل الحلزونى

٣- الشكل البنائى الثالث Tertiary structure ، السلاسل الملتفة Turned chains

فى هذا الشكل ، تنثنى السلسلة نفسها الى الخلف ، وتلتف Turned chain ، مع تكوين روابط داخلية بين أجزاء السلسلة ، من الايدروجين وثنائى الكبريتيد ، وهذه الروابط ، تعطى للبروتين ثباتا فى الشكل

ويدل هذا البناء ، على الطريقة التى تلتف بها
كل سلسلة ببتيدية على نفسها

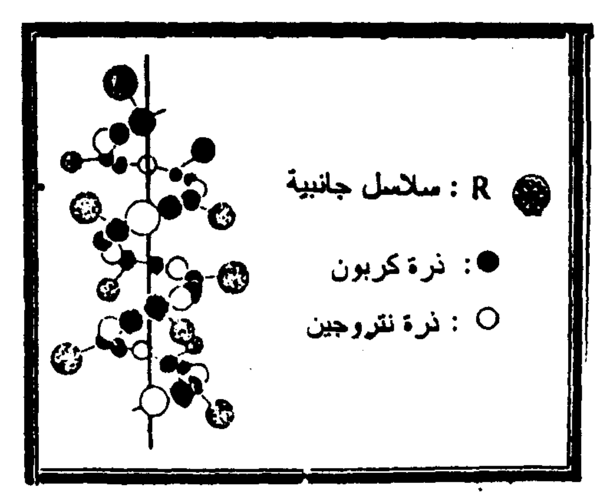
٤- الشكل البنائى الرابع Quaternary structure ، السلاسل المطبقة Folded chains

ينتج هذا الشكل ، من اتحاد سلسلتين أو أكثر من الشكل التركيبى الثالث ، وتصبح السلاسل مطبقة فوق بعضها Folded .

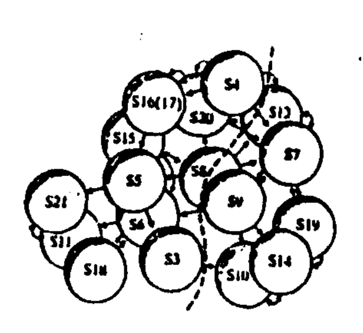
وفى هذا الشكل ، نجد البروتين على شكل كرويات Globules ، أو الحبل Rope ذو الألياف الملتوية على بعضها Coiled fibers ، وقد يأخذ شكلا مجسما ثلاثى الأبعاد Three dimensional structure .

ويدل هذا البناء ، على الطريقة التى تتفاعل بها سلسلة أو أكثر من سلاسل البروتين مع بعضها البعض ، وهذا البناء هو الذى يؤدى إلى حالة التخصص فى التفاعل .

شكل ٩ (٣) - أ :
الشكل التركيبى الأولى للبروتين
(السلسلة المستقيمة)
يوضح الشكل السلاسل الببتيدية المكونة لبروتين α-Chymotrypsin ، مرتب عليها الأحماض الأمينية .
ويتكون البروتين من ثلاث سلاسل طولية (A,B & C) ، مرتبطة مع بعضها بروابط ثنائية الكبريتيد - S - - S ، تربط مجاميع السستئين (C) ببعضها

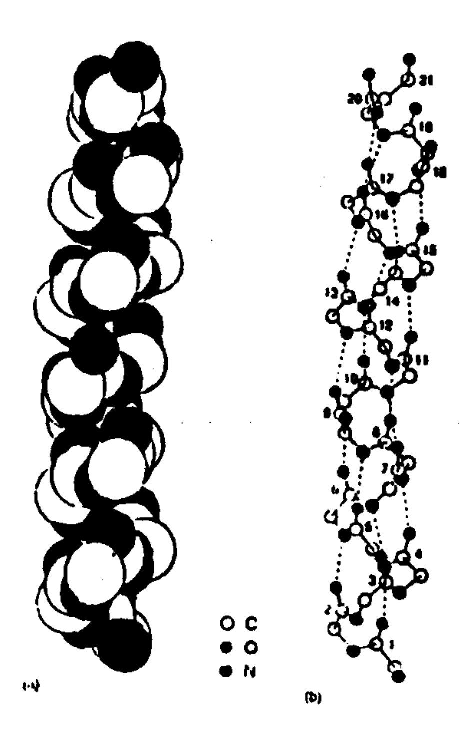


شكل ٩ (٣) - ب :
الشكل التركيبى الثانوى للبروتين
(السلسلة الحلزونية)
يوضح الشكل جزء من السلسلة الببتيدية الحلزونية للشكل ، ويساعد على ثبات التركيب ، روابط الايدروجين التى تربط الأحماض الأمينية بمجاميع الكربوكسيل ويظهر بالشكل ذرات الكربون والنتروجين فقط .



شكل ٩ (٣) جـ :
الشكل التركيبى الثالث للبروتين
(السلسلة الملتفة)
يوضح الشكل ، النظام التركيبى الملتف للسلاسل الببتيدية ، كما يظهر بجزء من تركيب البروتين الرايبوسومى 30S .
ويساعد على ثبات التركيب وجود روابط S - S - وروابط الايدروجين .

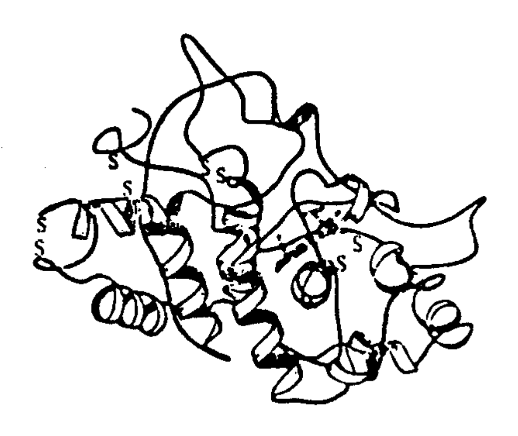
يفصل الخط المنقط بين مجموعتين من البروتين



شكل ٩ (٣) - د :
الشكل التركيبى الرابع للبروتين
(السلسلة المطبقة)
يوضح الشكل جزء من السلسلة المطبقة للسلاسل الببتيدية فى بروتين الميوجلوبين

(a) الشكل العام لجزء من السلسلة المطبقة
(b) مكونات السلسلة من ذرات C ، O ، N

شكل ٩ (٣) – هـ
نموذج تخطيطي للشكل التركيبي الرابع المجسم ، أى ثلاثي الأبعاد ، لإنزيم Horse radish peroxidase isozyme.



ويلاحظ أن البروتين الانزيمى ، لايصبح نشطاً ، مالم يأخذ الشكل التركيبى الثالث أو الرابع ، وان أى خلل يلحق بالشكل النهائى للإنزيم ، كتعرضه للحرارة مثلاً ، يفكك الروابط التى تربط السلاسل ببعضها ، فتتغير طبيعة الانزيم Denatured ، ويفقد تخصصه ، ويتوقف نشاطه .

أنواع حامض الرنا RNA

يلعب حامض الرنا بأنواعه المختلفة ، دوراً رئيسيا فى تكوين الانزيمات ، وهذا الحامض وحيد الخيط أى مفرد السلسلة Single strand ، ويتكون الخيط من نيوكليوتيدات ، وتتركب النيوكليوتيده من فوسفات P ، وسكر الرايبوز الخماسى S ، وقاعدة نتروجينية N ، والقاعدة قد تكون بيورين (أدينين A ، جوانين G) أو بيريميدين (يوراسيل U ، سيتوزين C) .

شكل تخطيطى لخيط حامض الرنا

```
P - S - P - S - P - S - S - P
    |       |       |   |
    C       G       U   A
```

P : فوسفات   S : سكر رايبوز   A,U,G,C : قواعد نتروجينية

ويوجد ثلاثة أنواع من الحامض : الرنا الرسول m-RNA ، الرنا الرايبوسومى r-RNA ، والرنا الناقل t-RNA (وقد يسمى بالرنا الذائب s-RNA) .

ولكل نوع من هذه الأحماض تركيبه ، ووظيفته التى يقوم بها فى تخليق البروتين .

الرنا – الرسول : Messenger RNA, m-RNA*

يمثل الرنا الرسول حوالى ٥% من كمية أحماض الرنا الكلية الموجودة بالخلية ، وهو يتكون فى نواة الخلية ، فيما يعرف بعملية الاستنساخ ، كمكمل لجزء لخيط واحد من خيوط دناDNA النواه ، الذى يعمل كقالب Template . وخيط الدنا خيط طويل ، ويصل عدد النيوكليوتيدات به الى عدة آلاف ، لذلك فان الاستنساخ يحدث لجزء من خيط الدنا ، الذى يحمل الشفرة الوراثية المطلوبة .

ويحدث الاستنساخ من دنا النواه الى الرنا الرسول ، بتأثير RNA polymerase ، حسب المعادلة

$$\left.\begin{array}{c}\text{ATP (Adenosine triphosphate)}\\+\\\text{UTP (Uridine triphosphate)}\\+\\\text{GTP (Guanosine triphosphate)}\\+\\\text{CTP (Cytidine triphosphate)}\end{array}\right\}\xrightarrow[\text{RNA polymerase}]{\text{DNA template}}\text{mRNA + ppi}$$

ppi. فوسفات غير عضوى

الرنا الرسول mRNA الذى تكون بالاستنساخ من دنا النواه ، يحمل الشفرة الخاصة بتكوين الانزيم التى كانت موجودة على الدنا ، وبذلك يعمل الرسول ، كوسيط لنقل الشفرة من دنا النواة الى رايبوسومات السيتوبلازم ، حيث تتم عملية الترجمة .

الشفرة الوراثية : Genetic code

يتكون حامض دنا النواة ، من مجموعة من الجينات الحاملة للشفرات الوراثية ، والجين عبارة عن نيوكليوتيدة واحدة ، أو ترتيباً لمجموعة من النيوكليوتيدات .

وتتكون الشفرة من وحدات وراثية تسمى سيسترون Cistron ، فالسيسترون هو الوحدة الموجودة على دنا النواة ، التى تحمل المعلومة الخاصة بتخليق انزيم واحد ، أو جزىء بروتين واحد ، أو سلسلة ببتيدية واحدة ، وتعبير سيسترون مرادف للجين من الناحية الوظيفية .

قد يحمل دنا النواة أكثر من سيسترون تعمل معاً بالتتابع ، كاوبرون ، لإعطاء المعلومة الخاصة بتخليق الانزيمات المتتابعة ، الخاصة بمسار دورة الأيض الغذائى .

ومن المعروف ، أن الحامض النووى ، به أربعة أنواع من النيوكليوتيدات ، وبالنسبة للرنا الرسول ، فإن هذه النيوكليوتيدات تكون مرتبة فى وحدات متتابعة ، كل وحدة تتكون من ثلاث Triple نيوكليوتيدات متتابعة ، وتسمى هذه الوحدة الثلاثية بالشفرة Codon ، أو بوحدة التشفير (الرامز) – فالكودون ، هو الشفرة الوراثية ، التى يرمز كل منها لحامض أمينى معين ، ويوجد منها مايرمز لبدء أو نهاية تكون سلسلة ببتيدية .

---

* راجع الاستنساخ والترجمة والشفرة الوراثية بالباب الثامن ، الفصل الأول ، ص ص ٥٦٠-٥٦٥ .

وكمثال ، ترمز وحدات التشفير التالية ، الى الأحماض الأمينية الموضحة بين الأقواس

AGA (أرجنين) - UUG (ليوسين) - CAG (جلوتامين) - UAU (ثيروسين)

ونظراً لوجود أربعة أنواع من النيوكليوتيدات (A-T, G-C) فى حامض الدنا ، وA-U, G-C فى حامض الرنا) ، فإن عدد التتابعات التى تتكون من ثلاث نيوكليوتيدات = ٤^٣ = ٦٤ كودون ، وهو عدد كافى وزيادة للرمز لكل الأحماض الأمينية ، التى يبلغ عددها واحداً وعشرون حمضاً ، الداخلة فى تركيب البروتينات المختلفة .

الرنا الرايبوسومى* : Ribosomal RNA, r-RNA

يمثل هذا الحامض حوالى ٨٠% من كمية أحماض الرنا الموجودة بالخلية ، وهو يوجد بالسيتوبلازم والغشاء السيتوبلازمى .

الرنا الرايبوسومى الموجود فى خلايا الكائنات بدائية النواة (البروكاريوتا) من نوع 70S ، وهذا يعنى أنه أصغر حجماً ، وأقل فى وزنه الجزيئى ، وفى محتواه من الأحماض الأمينية ، وأيضا فى سرعة الترسيب ، من الحامض الرايبوسومى الموجود فى خلايا الكائنات حقيقية النواه (الأيوكاريوتا) ، والذى هو من نوع 80S .

ويعبر معامل الترسيب ، S ، عن سرعة ترسيب الجزيئات ، عند معاملتها بالطرد المركزى الفائق السرعة ، وكلما زادت قيمة معامل S للمادة المختبرة ، كلما زاد وزنها الجزئى، وزادت سرعتها فى الترسيب .

وعندما درس معامل ترسيب حامض الرنا الرايبوسومى فى البروكاريوتا مثل بكتريا *E. coli* ، فقد وجد أن الحامض يتكون من جزئين ، أمكن فصلهما بكاتيون مثل Mg^{2+}

- جزء صغير من نوع 30S ، وهو يحمل مراكز الارتباط بالكودون ، الموجودة بالرسول
- جزء كبير من نوع 50S ، وهو يحمل مراكز الارتباط الموجودة بالرنا الناقل للأحماض الأمينية ، الخاصة بسلسلة الببتيد الجارى تكوينها .

على سطح الرنا الرايبوسومى ، يتحد الرسول حامل الشفرة من النواه ، كما يتحد الرنا الناقل للأحماض الأمينية ، الداخلة فى تركيب بروتين الإنزيم المطلوب .

---

* راجع الرايبوسومات ووحدات سفدبرج ومعامل الترسيب S ، بالباب الخامس ، الفصل الثان ، ص ص ٢٤٨- ٢٥٠ .

الرنا الناقل (الذائب) : Transfer (soluble) RNA, t-RNA (s-RNA)

يوجد هذا الحامض بسوائل سيتوبلازم الخلية ، لذلك أحياناً يسمى بالذائب ، وكميته متغيرة ، تتوقف على حالة نشاط الخلية أثناء تكوينها للبروتين .

وكل من الرنا الرايبوسومى والرنا الناقل، يتشابهان مع الرسول ، فى أن أيا منهما ، يستنسخ من مناطق متخصصة فى دنا النواة ، بواسطة إنزيم RNA polymerase ، ولكن هذه الأحماض تختلف عن بعضها من حيث الوزن الجزيئى ، ففى حالة الناقل يكون وزنه الجزيئى حوالى ٢٠ ألف دالتون ، بينما يزيد عن المليون ، فى كل من الرسول والرايبوسومى .

يقوم الرنا الناقل ، بنقل الأحماض الأمينية من وعاء الخلية Cell matrix ، الى مكانها المناسب على قالب الحامض الرسول ، الموجود على سطح الرنا الرايبوسومى ، ويتم التعرف على المكان المناسب ، من تقابل مقابل كودون طرف الناقل ، بكودون الرسول . ويوجد ناقل متخصص ، لنقل كل حامض أمينى مطلوب فى السلسلة الببتيدية الجارى تكوينها .

التركيب البنائى لحامض الرنا الناقل

يتكون حامض الرنا الناقل ، من سلسلة واحدة ، بها حوالى ٨٠ نيوكليوتيدة ، وتوجد السلسلة فى طيات ، تأخذ شكل ورقة البرسيم Clover leaf structure [شكل ٩ (٣) – ١].

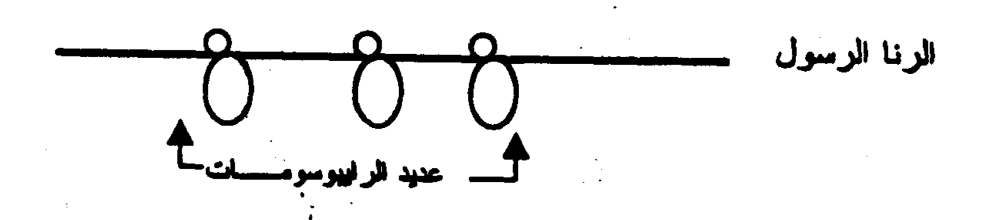
جزىء حامض الرنا الناقل ، له طرف متخصص ، فى حمل جزىء واحد من الحامض الأمينى النشط ، من الخلية الى الرنا الرسول . ويتكون هذا الطرف من ثلاث نيوكليوتيدات متتابعة ، وهى متشابهة فى جميع أحماض الرنا الناقل الموجودة بالخلية ، حيث تتكون من ACC (Adenylic – Cytidylic – Cytidylic) ، ويتم إرتباط الحامض الأمينى المنقول ، بطرف الناقل ، بالربط بين مجموعة كربوكسيل الحامض الأمينى ، مع ايدروكسيل ذرة الكربون الثالثة بسكر رايبوز النيوكليوتيدة [شكل ٩ (٣) – ٢] .

ويوجد أيضا بجزىء حامض الرنا الناقل ، طرف متخصص يسمى مقابل الشفرة (مقابل الكودون) ، يتحد بشفرة (كودون) الرسول ، ويتكون مقابل الشفرة من ثلاث نيوكليوتيدات متتابعة (مثلا AAC) ، وهى التى تتحد مع الشفرة المكملة لها فى الرسول (فى هذا المثال UUG) .

خطوات تخليق بروتين الانزيم : Protein biosynthesis

يتم تخليق البروتين (الانزيم) على الرايبوسوم ، ويوجد الرايبوسوم ، بالسيتوبلازم وبالغشاء السيتوبلازمي فى الكائنات بدائية النواه ، ويوجد فى الشبكة الاندوبلازمية فى الكائنات حقيقية النواه ، وهو جزىء الترامیکروسکوبی (أى فوق مجهرى ، لايرى بالمجهر العادى) ، ويتكون من بروتين وحامض الرنا الرايبوسومى .

وعندما تتحد مجموعة من الرايبوسومات 70S مع بعضها ، لتعمل بنشاط فى تكوين البروتين على خيط الرنا الرسول ، فإن هذه المجموعة تسمى عديد الرايبوسومات Polysomes, Polyribosomes .



شكل ٩ (٣) - ٣ : التركيب البنائي لحامض الرنا الناقل - t-RNA -

ومكان اتصال الحامض الأمينى به

والناقل يشبه شكل ورقة البرسيم RNA

شكل ٩ (٣) - ١ : مكان اتصال الناقل بالحامض الأمينى عند ذرة الكربون رقم (٣) بسكر رايبوز الرنا الناقل .

ويتم تخليق بروتين الانزيم فى خطوتين رئيسيتين ، هما الاستنساخ والترجمة

الاستنساخ : Transcription

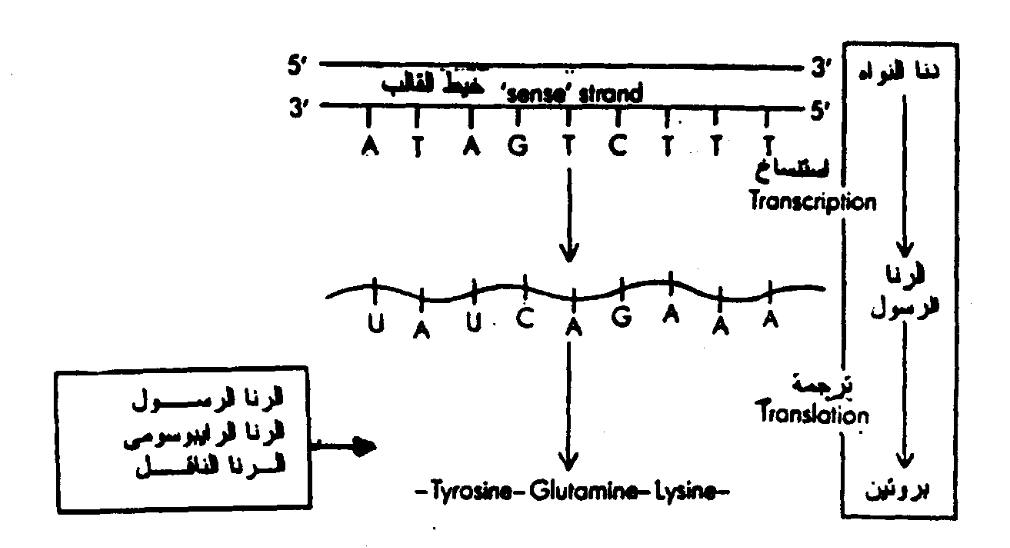
الخطوة الأولى فى تخليق بروتين الانزيم ، هى عملية الاستنساخ ، أى التعبير عن الجينات الموجودة فى دنا النواه ، ويتم ذلك فى النواه . وتتضمن هذه العملية ، انفصال خيطى دنا النواة ، حيث يعمل أحد الخيطين كقالب ، ليتخلق كمكمل له ، خيط الرنا الرسول ، بواسطة انزيم RNA polymerase [شكل ٩ (٣) - ٣] .

الرسول الناتج مكمل تماما لقواعد النيوكليوتيدات الموجودة على الدنا ، وبذلك يحمل الرسول الشفرة التى كانت موجودة على دنا النواة ، الخاصة بتخليق بروتين الانزيم المطلوب .

ينقل الرسول الشفرة الى رايبوسوم السيتوبلازم ، حيث يتحد الرسول بسطح الرايبوسوم ، ويعمل كقالب فى تكوين بروتين الانزيم المطلوب .

الترجمة : Translation

الخطوة التالية فى تخليق بروتين الانزيم ، هى ترجمة الشفرة الخاصة بتتابع النيوكليوتيدات ، أي وحدات التشفير (الكودونات) ، الموجودة على الرنا الرسول ، الى أحماض أمينية ، ثم إتحاد الأحماض الأمينية بروابط ببتيدية ، لتكوين سلاسل ببتيدية ، ثم انفصال البروتين المتكون من الرايبوسوم [شكل ٩ (٣) - ٣] .



شكل ٩ (٣) - ٣ : رسم تخطيطى موجز لنظام تخليق بروتين الانزيم .

وتتم عملية الترجمة فى خطوات

١ - حدوث تنشيط للأحماض الأمينية (AA) الموجودة بوعاء الخلية ، بإتحادها مع ATP ، وتكوين مركب وسطى AA-AMP-E ، بتأثير الانزيم المتخصص (E) ، إذ أن لكل حامض أمينى الانزيم الخاص به ، والانزيم من نوع انزيمات الربط Ligases .

$$AA + ATP \xrightarrow[\text{RNA synthetase}]{\text{Enzyme (E)}} AA\text{-}AMP - E + P.P$$

حامض أمينى منشط — بيروفوسفات

٢ - يظل الحامض الأمينى المنشط متحداً بالانزيم E ، حتى يتحد مع طرف الناقل t-RNA ، بواسطة نفس الانزيم E ، ويحدث الاتحاد بين ممجموعة كربوكسيل الحامض الأمينى ، ومجموعة ايدروكسيل ذرة الكربون رقم ٣ ، بسكر رايبوز الناقل [شكل ٩ (٣) - ٢] .

$$AA\text{-}AMP\text{-}E + t\text{-}RNA \longrightarrow AA\text{-}t\text{-}RNA + AMP + E$$

٣ -ينقل t-RNA ، الحامض الأمينى المتحد بطرفه ، الى مكانه المخصص له بخيط الرسول m-RNA ، المتحد بسطح الرايبوسوم ، ويتم التعرف على المكان المخصص ، من تقابل مقابل كودون طرف الناقل ، بالكودون المكمل له على الرسول .

٤ -الأحماض الأمينية التى نقلها الرنا الناقل t-RNA ، الى الرنا الرسول m-RNA بالرايبوسوم ، تتحد مع بعضها بإنزيمات متخصصة ، تربط مجموعة الأمين بمجموعة الكربوكسيل ، لتتكون السلاسل الببتيدية .

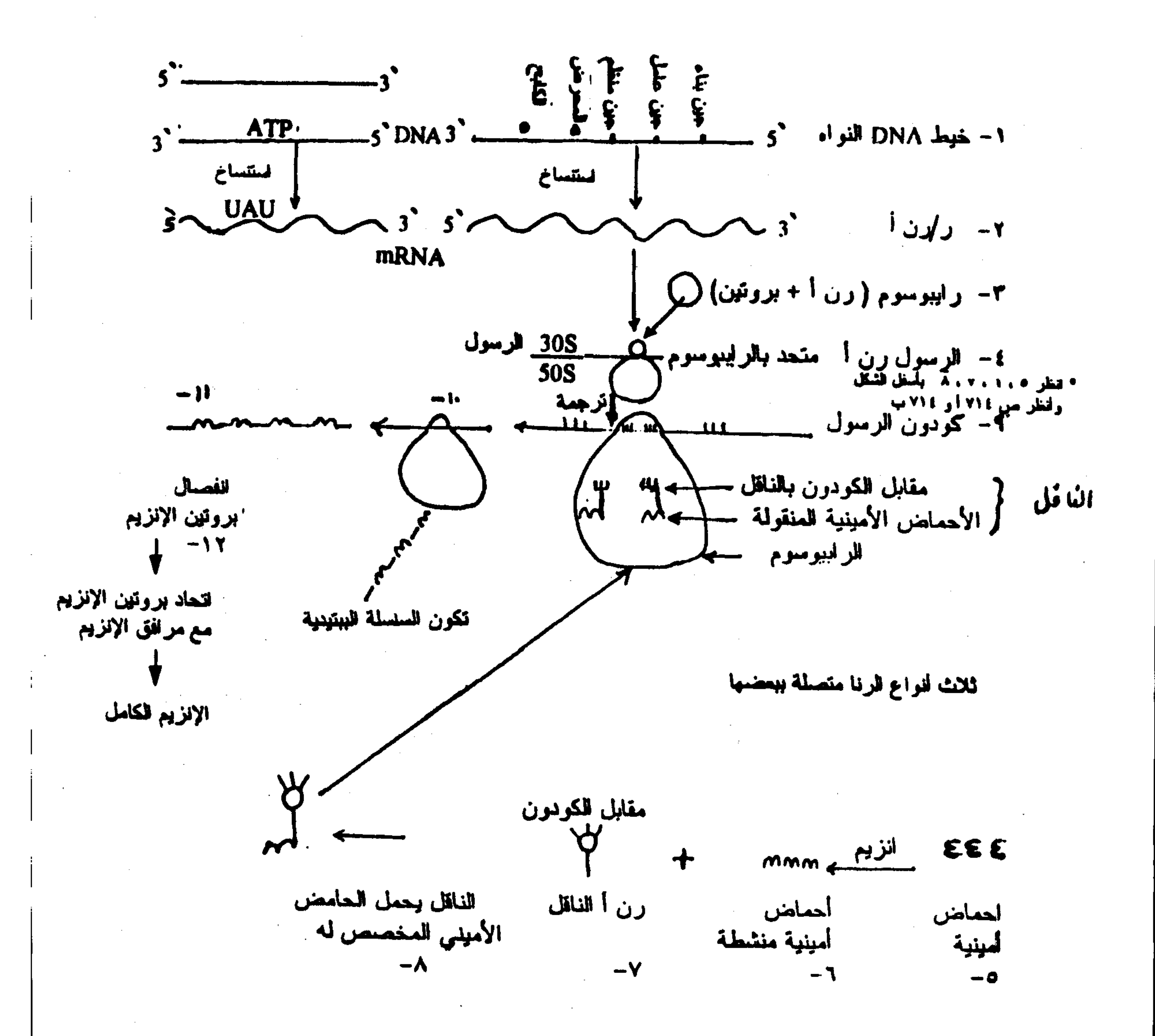
تنفصل السلاسل من الرايبوسوم ، وبذلك يكون قد تم تكون البروتين الإنزيمى بخواصه وبشكله البنائى المميز . ويتحد بروتين الانزيم بقرين الانزيم أو بالعامل المكمل ، ليتكون الانزيم الكامل - وتحتاج هذه العملية الى انزيمات متخصصة ومصادر للطاقة مثل ATP .

بعد انفصال البروتين ، يبقى الرسول متصلاً بالرايبوسوم ، وينشط الناقل ، ليتكون بروتين جديد .

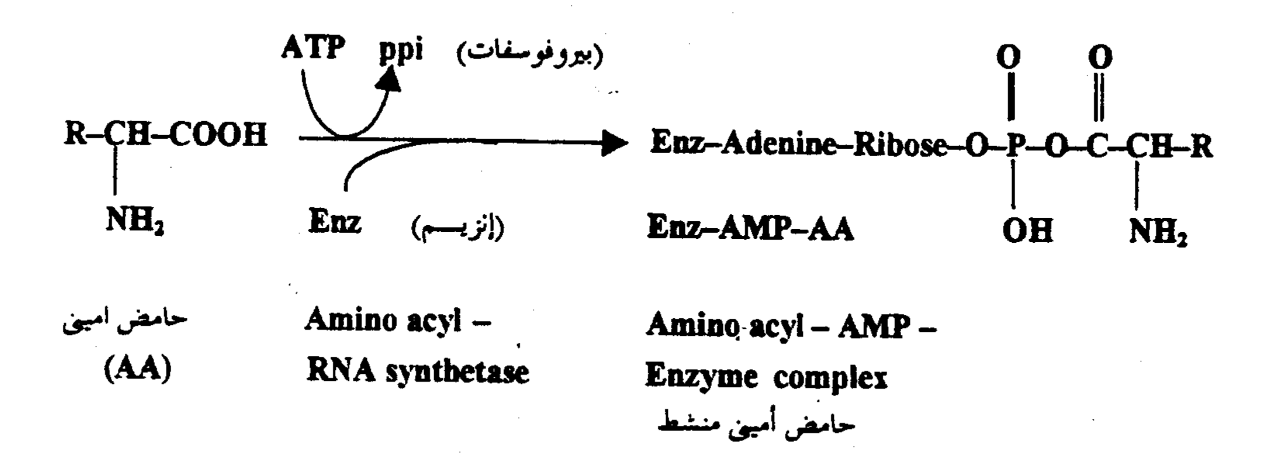
ويوضح الشكل التخطيطى التالى [شكل ٩ (٣) - ٤] ، تتابع الأحداث الخاصة بتخليق بروتين الإنزيم .

والخطوات من ٥ الى ١٠ بالشكل [٩ (٣) - ٤] ، موضحة تفصيلا بالأشكال [٩ (٣) - ٥ و ٦ و ٧] .

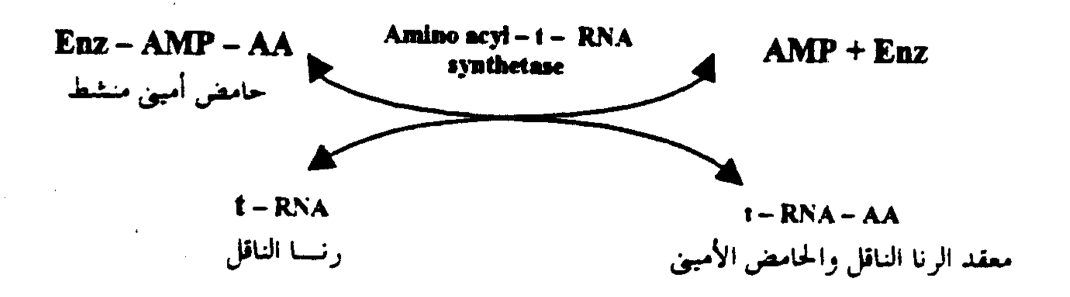
أحداث تخليق بروتين الإنزيم



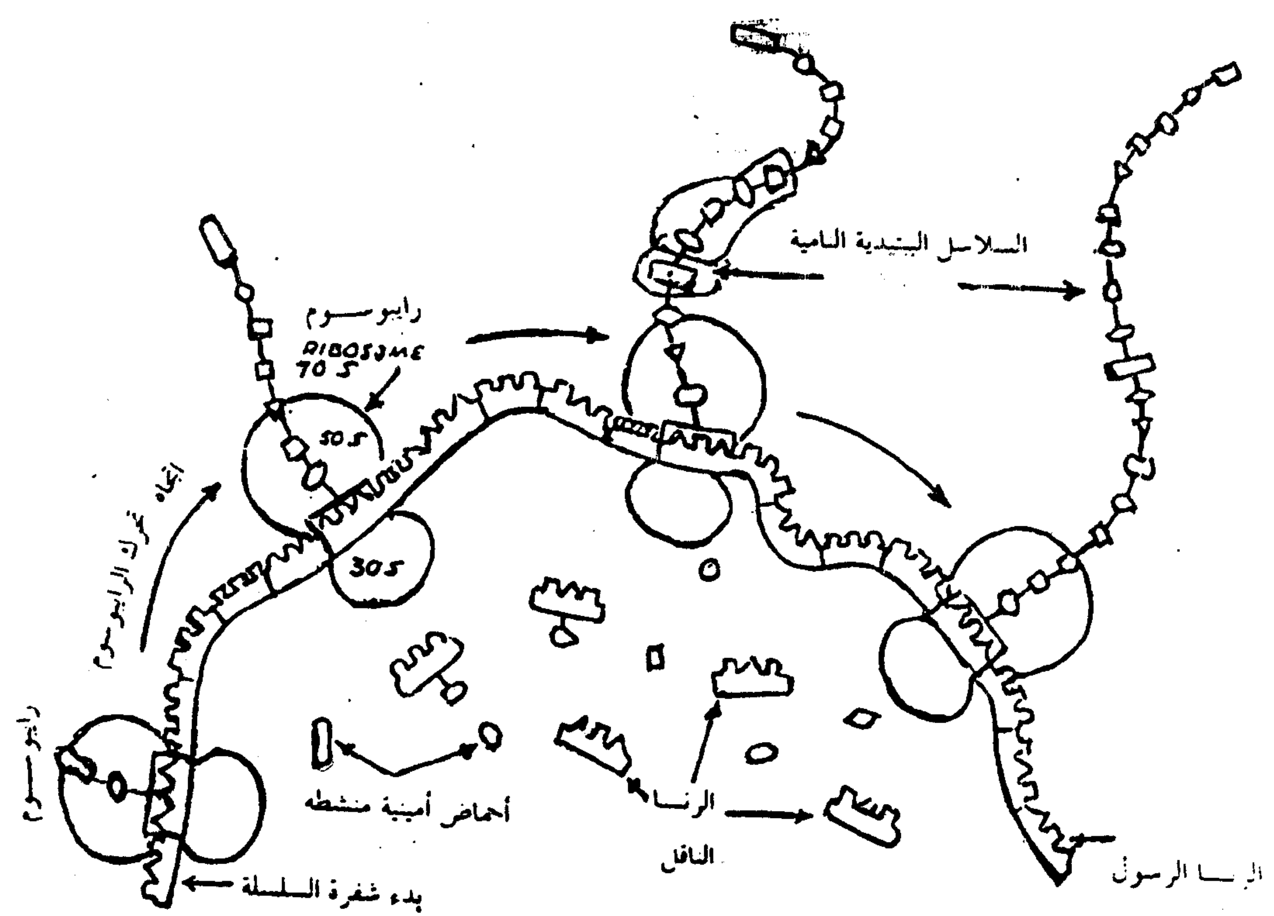
شكل ٩ (٣) - ٤ : رسم تخطيطي لتتابع الأحداث الخاصة بتخليق بروتين الانزيم بدءاً من دنا النـواه ، الى الرسول ، الى تخليق البروتين .



شكل ٩(٣) – ٥: تفاعلات تنشيط الحامض الأمينى [خطوة رقم ٥ ورقم ٦ بالشكل ٩(٣) – ٤]



شكل ٩(٣) – ٦ : ارتباط الرنا الناقل بالحامض الأمينى المنشط [خطوة رقم ٧ بالشكل ٩(٣) – ٤]



شكل ٩(٣) - ٧: حمل الرنا الناقل للحامض الأمينى المختص له إلى الرايبوسوم [خطوة رقم ٨ بالشكل ٩(٣) - ٤]
وتكوين السلسلة الببتيدية [خطوة رقم ٩ و ١٠ بالشكل ٩(٣)- ٤]

من شكل [٩ (٣) - ٤] ، والموضح بالأشكال [٩ (٣) - ٥ و ٦ و ٧] نلاحظ

١ - خيط دنا النواه
٢ - الاستنساخ ، وتكون الرنا الرسول ، تحت ظروف التنظيم من المحرض ، الكابح ، الجين المنظم ، الجين الناقل ، جين البناء .. الخ
٣ - الرايبوسوم (رنا الرايبوسوم متحدا مع بروتين)
٤ - اتحاد الرسول بسطح الرايبوسوم
٥ - أحماض أمينية فى وعاء الخلية
٦ - أحماض أمينية منشطة بالانزيم المتخصص
٧ - الرنا الناقل . يوجد ٢١ ناقل ، أى ناقل لكل حامل أمينى
٨ - الناقل يحمل الحامض الأمينى المتخصص له الى الرايبوسوم
٩ - ارتباط الأحماض الأمينية بالرسول الموجود على سطح الرايبوسوم
١٠ - تكون السلسلة الببتيدية
١١ - انفصال بروتين الانزيم الذى تم تخليقه ، عن الرايبوسوم
بعد انفصال البروتين ، يبقى الرسول متصلا بالرايبوسوم ، ويقوم الناقل بنقل أحماض أمينية مرة أخرى ، لتكوين بروتين من جديد
١٢- اتحاد بروتين الانزيم بمرافق الانزيم ، أو العامل المكمل ، ليتكون الانزيم الكامل ، ويتطلب هذا توفر مصادر طاقة وإنزيمات متخصصة .

تحضير الانزيمات للدراسات الميكروبيولوجية : Enzymes preparation

يمكن الحصول على الانزيمات ، للدراسات الميكروبيولوجية ، من المصادر الآتية

١ - من خلايا نامية فى مزرعة Growing cultures .

٢ - من خلايا ساكنة Resting cells ، أى خلايا حية ولكن فى غير حالة انقسام ، ونحصل عليها بعد عزلها من مزرعة نامية ، ثم وضعها فى مجلول غير مغذى .

٣ - باستخلاص الإنزيمات من خلاياها Extracted enzymes ، أى انزيمات خالية من الخلايا الكاملة التى كانت تحتويها Cell-free enzymes

ودرجة نقاوة الانزيمات الخالية من الخلايا تكون متفاوتة ، ففى مراحل الاستخلاص الأولى أى بعد فصل الجدار الخلوى مباشرة ، يكون المستخلص الانزيمى الناتج ، مستخلص خام Crude extract ، يحتوى على أجزاء مختلفة من محتويات الخلايا المهشمة .

وبأستمرار عملية تنقية المستخلص بالوسائل المناسبة ، يمكن الحصول على المكونات المختلفة للخلية بحالة نقية ، مثل الرايبوسومات ، والمواد السيتوبلازمية الذائبة ، والحبيبات الدقيقة الحجم ، ودراسة كل مكون لما يحتويه من انزيمات .

ويمكن الرجوع الى التفصيلات الخاصة بهذه المواضيع فى المراجع الخاصة بالطرق العملية للبكتريولوجى ، وفى عرض موجز ، فإنه يمكن الحصول على الانزيمات من المصادر السابقة ، باستخدام الطرق التالية

١- الطرق الخاصة بالمزارع النامية : Growing culture technique

تلخص خطوات الحصول على إنزيمات من مزارع نامية فى النقاط التالية

- تلقيح البكتريا فى بيئة تحتوى على مواد التفاعل المناسبة
- تحضين المزرعة يوم أو عدة أيام ، تحت الظروف المناسبة
- فحص المزرعة لإختفاء مواد التفاعل ، أو لظهور النواتج

٢- الطرق الخاصة بالخلايا الساكنة : Resting cells technique

تلخص خطوات الحصول على إنزيمات من خلايا ساكنة ، فيما يلى

- تنمية البكتريا فى مزرعة سائلة مناسبة
- تحضير معلق الخلايا الساكنة

ويتم تحضير هذا المعلق بفصل الخلايا من المزرعة بالطرد المركزى ، ووضعها فى محلول غير مغذى (عادة ماء مقطر أو محلول بتركيز مناسب من ملح الطعام) ، وتكرر عملية الفصل والتعليق فى المحلول غير المغذى عدة مرات ، لتخليص الميكروبات من كل أثار بيئة النمو الأولى ، وتسمى هذه العملية ، بغسيل الخلايا Washing ، ويعرف المعلق الأخير الذى نحصل عليه ، بعد عملية غسيل الخلايا ، بمعلق الخلايا الساكنة .

- اضافة الخلايا الساكنة ومادة التفاعل ، لجهاز مناسب للدراسة مثل جهاز فاربورج Warburg أو أنبوبة ثانبرج Thunberg tube

- التحضين
- فحص المزرعة لإختفاء مواد التفاعل أو لظهور النواتج

٣- الطرق الخاصة بالانزيمات الخالية من الخلايا : Cell-free enzymes technique

تلخص خطوات الحصول على الإنزيمات الخالية من الخلايا ، فيما يلى

- تحضير معلق مركز من الخلايا الساكنة
- تهشيم الخلايا بطرق مناسبة ، مثل الطحن ، أو باستخدام الموجات الصوتية ذات نبذبات ٥٠-٦٠ سيكل/ ثانية ، وذلك لتحرير الانزيمات من الخلايا
- فصل الخلايا غير المهشمة بالطرد المركزى أو بالترشيح ، حيث ترسب الخلايا ، ونحصل فى المستخلص على الانزيمات الخالية من الخلايا الكاملة

فصل الانزيمات

- عقب تكون المعلقات الانزيمية ، وفصل الخلايا ، والحصول على المستخلصات ، تفصل الانزيمات الموجودة بالمستخلصات عن بعضها ، ثم تنقى ، وذلك بإتباع طرق فصل وتنقية البروتينات ، وتعد الإنزيمات للاستخدام .
- أما بالنسبة للانزيمات التى تفرز خارج الخلية الميكروبية ، فإنه يمكن الحصول عليها ، خالية من الخلايا الكاملة ، بترشيح مزرعة النمو خلال المرشحات البكتيرية ، وفصل الانزيمات من الراشح بترسيب الإنزيمات ، أوبادمصاصها على مواد مناسبة ، مثل مسحوق الألومينا Alumina powder ، أو فوسفات الكالسيوم الجيلاتينى القوام

مجالات الاستخدامات الخاصة بطرق تحضير الانزيمات

تعتبر طريقة الحصول على الانزيمات من المزارع النامية ، من الطرق الروتينية المستخدمة فى دراسة الانزيمات الميكروبية ، حيث أنها تمكن الباحث من التعرف على الأنشطة الانزيمية المختلفة للميكروبات ، وتوفر نتائج هذه الاختبارات ، المعلومات الضرورية للتعرف على الميكروبات .

وتستخدم طريقتى الخلايا الساكنة والانزيمات الخالية من الخلايا ، فى البحوث الخاصة بدراسات الأيض الغذائى ، بهدف التعرف على كيفية قيام الميكروب بإجراء تفاعل معين ، والتعرف على مايحدث من تغيرات بمادة التفاعل .

تثبيت الانزيمات : Stabilization of enzymes

تتعرض الانزيمات ، النقية أو الخام ، لفقد نشاطها ، بسبب التخزين الطويل ، أو نتيجة للتعرض لتأثير بعض العوامل مثل الحرارة المرتفعة ، ولهذا السبب ، خاصة وان إنتاج الانزيمات عملية مكلفة ، فإن الحاجة تصبح ماسة للعمل على الاحتفاظ بنشاط الإنزيمات لفترات طويلة ، ويتم ذلك بعمل تثبيت للإنزيمات .

والطرق المستخدمة فى تثبيت الانزيمات متعددة ، غير أنها جميعاً يجب أن تسمح باستخدام الانزيمات عدة مرات ، وأن تؤدى الى احتفاظ الإنزيمات بثباتها لعدة أشهر تحت ظروف التخزين المختلفة ، دون أن يفقد الانزيم خواصه أو تخصصه .

تثبيت الإنزيمات التى تستخدم وهى ذائبة : Stabilization of soluble enzymes

فى كثير من الحالات تستخدم الإنزيمات وهى فى حالة ذائبة ، مثل تلك المستخدمة فى المنظفات السائلة ، وفى التشخيص الطبى ، وفى الاضافات الغذائية Food additives .

وتثبت هذه الانزيمات باضافة بعض المواد المناسبة ، أو بإجراء بعض التعديلات الكيميائية عليها ، مما يساعد على تثبيتها تحت ظروف التخزين ، أو عند التعرض لحرارة مرتفعة ، مع المحافظة على حالتها الذائبة . ولكون هذه الانزيمات مثبتة بحالة ذائبة ، فإنه من الصعب استخدامها أكثر من مرة .

ومن الطرق المستخدمة فى تثبيت الانزيمات ، وهى فى حالة ذائبة

- تثبيت إنزيم Glucose isomerase ضد تأثير الحرارة المرتفعة ، بأن يضاف له مادة تفاعله ، وهى الجلوكوز .
- تثبيت إنزيم Benzyl alcohol dehydrogenase ، بإضافة مذيب مناسب بتركيز منخفض حتى لايتلف الانزيم ، مثل أسيتون ٢% ، أو ايثانول ٥% .
- تثبيت الإنزيمات باضافة بعض المواد الطبيعية مثل الجيلاتين ، أو المواد المتبلمرة مثل Polyethylene glycol .
- تثبيت الانزيمات بطرق كيميائية

ويتم ذلك بعمل تحوير كيميائى للإنزيم ، دون أن يفقد ذوبانه أو خصائصه ، مثل إضافة مجموعة أسايل Acyl لإنزيم Asparaginase ، وهو الإنزيم الذى يحول الاسباراجين الى حمض أسبارتيك .

تثبيت الإنزيمات التى تستخدم وهى فى حالة غير ذائبة

من الطرق المستخدمة فى تثبيت هذه الانزيمات ، الربط مع مواد حاملة ، وتغليف الإنزيمات ، وتسمح هذه الطرق باستخدام الانزيمات عدة مرات .

١- ربط الإنزيمات مع مواد حاملة : Binding to carriers

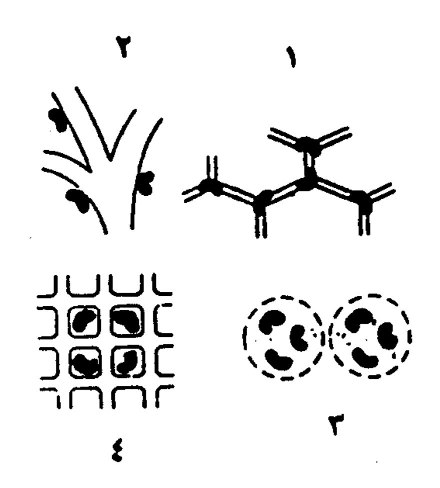
يثبت الإنزيم بربطه مع مواد حاملة مناسبة

- قد يتم الربط بالإدمصاص مع مادة مثل Bentonite
- وقد يتم الربط مع المواد الحاملة ، بالإتحاد الأيونى المباشر ، مع المجموعات المناسبة الداخلة فى تكوين الأحماض الأمينية بتركيب الإنزيم ، بحيث لاتثبط نشاطه ، مثل مجموعة الكربوكسيل ألفا أو بيتا أو جاما ، ومجموعة الأمين ألفا أو بيتا ، ومجموعات الفينايل والهيدروكسيل ، والسلفيدريل ، والاميديازول .
- وقد يتم الربط مع المواد الحاملة بروابط تساهمية Covalent bonding ، مثل ارتباط بعض الانزيمات مع مادة Carboxymethyl cellulose, CMC .

٢- التثبيت بتغليف الإنزيمات : Encapsulation of enzymes

- قد يتم التثبيت بتغليف الإنزيم بغشاء شبه منفذ .
- وقد يغلف الانزيم بواسطة جل Gel مثل Poly acrylamide gel, PAG ، التى تحيط بالإنزيم كغلاف .
- وقد يغلف الإنزيم بطرق أخرى ، منها طريقة الكابسولة الدقيقة Microcapsule ، أو باستخدام بلمرات الألياف Fibrous polymers مثل Cellulose triacetate ، التى ترسب حول الانزيم وتغلفه .

ويبين الشكل [٩ (٣) - ٨] بعض الطرق المستخدمة فى تثبيت الانزيمات



شكل ٩ (٣) - ٨ :
الطرق المختلفة لتثبيت الانزيمات
(١) ربط الانزيمات بروابط كيميائية
Cross-linked enzyme
(٢) ربط الانزيمات بمواد حاملة
Carrier-bound enzyme
(٣) ربط الانزيمات بنظام الكابسولة الدقيقة
Microcapsule
(٤) ربط الانزيمات بتغليفها
Enzyme inclusion

تمتاز الإنزيمات المغلفة بأنها على درجة عالية من الثبات ، ويمكن استعمالها عدة مرات ، بفصلها عن الوسط بواسطة الأغشية شبه المنفذة .

ويراعى عند تغليف الانزيمات ، أن يوجد بالغلاف المتكون منافذ دقيقة ، تسمح بدخول وخروج مواد التفاعل ، دون أن تسمح بفقد الانزيم .

الاستعمالات العملية للإنزيمات : Practical uses of enzymes

تستعمل الانزيمات فى نواحى عملية عديدة ، منها مايتعلق بالصناعات الغذائية [جدول ٩ (٣) - ١] لإجراء تحولات يرغبها المستهلك فى المادة الغذائية ، ومنها مايتعلق بالصناعات غير الغذائية ، أى فى الأغراض الصناعية الأخرى [جدول ٩ (٣) - ٢] ، وفى التشخيص الطبى [جدول ٩ (٣) - ٣] ، وفى التحاليل الطبية [جدول ٩ (٣) - ٤] .

جدول ٩ (٣) - ١ : بعض الانزيمات المستخدمة فى الأغذية

الإنزيم	الغذاء	الغرض من الاستعمال
الأميليز Amylase	المخبوزات البيرة	زيادة المحتوى السكرى للغذاء ، فيسهل عمل خميرة الخباز . تحويل النشا الي سكر ، حتي تتم عملية التخمر
السليوليز Cellulase	البن	تحليل السليلوز أثناء تجفيف حبوب البن
جلوكوز اكسيديز Glucose oxidase	منتجات غذائية متعددة	التخلص من الجلوكوز ومنع الأكسدة فى بعض المنتجات الغذائية ، كالعصائر والمشروبات والبيرة والنبيذ والجبنة واللحوم
الانفرتيز Invertase	عسل النحل الصناعى الحلويات	تحويل السكروز الى جلوكوز وفركتوز انتاج الحلويات المغلفة والشيكولاته والكريمة الطرية
اللاكتيز Lactase	أيس كريم	تحليل سكر اللاكتوز لمنع تبلوره ، فلا يحدث ترمل Sandiness للأيس كريم
البكتينيز Pectinases	البن عصائر الفاكهة والنبيذ	تحلل المواد البكتينية المغلفة للحبوب أثناء عملية التخمر عملية الترويق بتحليل المواد البكتينية
البروتييز Proteases	المخبوزات البيرة اللحوم اللحوم والأسماك	تحسين طعم وقوام الأغذية المخبوزة تحسين الطعم والمساعدة فى عمليات الترشيح والترويق تطرية وتسوية اللحوم استرجاع البروتين من العظام ونفايات الأسماك
الرينين Renin	الجبن	ترسيب الكازين في صناعة الجبن

جدول ٩ (٣) - ٢ : بعض الانزيمات المستخدمة فى الصناعة

الإنزيم	الصناعة	الغرض من الاستعمال
الأميليز Amylase	النسيج الورق	إزالة المواد النشوية المغلفة للأنسجة Desizing تحديد سمك الفتلة Sizing انتاج عجائن ومواد ربط من النشا
الكاتاليز Catalase	المطاط	تحويل السوائل اللبنية Latex ، الي رغاوى Foam
اللايبيز Lipases	المنظفات الدباغة	المساعدة فى التنظيف إعداد الجلود للدباغة
البكتينيز Pectinases	النسيج	تعطين الألياف
البروتييز Proteases	المنظفات الدباغة	المساعدة فى التنظيف إزالة الشعر من علي الجلود ، وإعدادها للدباغة

استعمالات الانزيمات فى الأغراض الطبية

توجد الإنزيمات بالخلايا أو الأنسجة بالجسم الطبيعى ، فى حالة إتزان مابين عمليات الهدم والبناء ، وعند حدوث أى اضطراب بخلايا أو أعضاء الجسم ، يحدث بالتالى إضطراب فى الإفراز الإنزيمى لهذه الأعضاء ، يترتب عليه غالبا ، زيادة فى إفراز أو فى نشاط الإنزيمات المفرزة من العضو المصاب . ويؤخذ هذا التغيير فى الإعتبار فى عمليات التشخيص وفى التحاليل الطبية [جدولى ٩ (٣) - ٣ و ٤] ، وقد أصبح الآن عملا روتينيا ، فى أى معمل إكلينيكى ، تقدير الانزيمات فى سيروم الدم وسوائل الجسم المختلفة .

جدول ٩ (٣) - ٣ : بعض الانزيمات المستخدمة فى التشخيص الطبى

المـــرض	الانزيم المختبر
أمراض الكبد Liver diseases	Alkaline phosphatase, AP Glutamine pyruvic transaminase, GPT Isocitric dehydrogenase, ICD
أمراض العضلات Muscle diseases	Creatine phosphokinase, CPK Lactic acid dehydrogenase, LDH
التهاب البنكرياس الحاد Pancreatitis, acute	Alpha amylase, α-amylase

جدول ٩ (٣) - ٤ : بعض الانزيمات المستخدمة فى التحاليل الطبية

التحليـل	الانزيم المستخدم
كحول بسيروم الدم	Alcohol dehydrogenase
كرياتين	Creatine phosphokinase
جالاكتوز ، (مرض وجود سكر الجالاكتوز بالدم ، الجالاكتوسيميا (Galactosemia	Galactose oxidase
الجلوكوز (مرض السكرى)	Glucose oxidase
اللاكتوز	Lactase
نتروجين ، يوريا الدم	Urease
حامض اليوريك (مرض النقرس Gout)	Uricase

References

مراجع الباب التاسع

Dawes I.W. and I.W. Sutherland (1992). Microbial Physiology, Blackwell, Oxford, London.

Dixon M. and E.C. Webb (1979). Enzymes. 3rd Ed., Academic Press, New York.

Fersht A. (1999). Structure and Mechanism in Protein Science. Freeman & Co., New York.

International Union of Biochemistry (1979). Enzyme Nomenclature, Academic Press, New York.

Lehninger A.L. (1982). Principles of Biochemistry. North Publishers, New York.

Miller J.H. and W.S. Reznikoff (1978). The operon. Cold Spring Harbor, New York.

Neihardt F.C.; J.L. Ingraham and M. Schaechter (1990). Physiology of the Bacterial Cell. A Molecular Approach. Sinauer Associates Inc., Maryland, USA.

Prescott L.M.; J.P. Harley and D.A. Klein (1999). Microbiology. Mc Graw-Hill Book Co., Inc., New York.

Schlegel H.G. (1995). General Microbiology, Cambridge Univ. Press, New York.

Sumner J.B. and K. Myrback (1952). The Enzymes. Academic Press, New York.

(الباب العاشر)
الطاقة الحيوية والأيض الغذائى البكتيرى

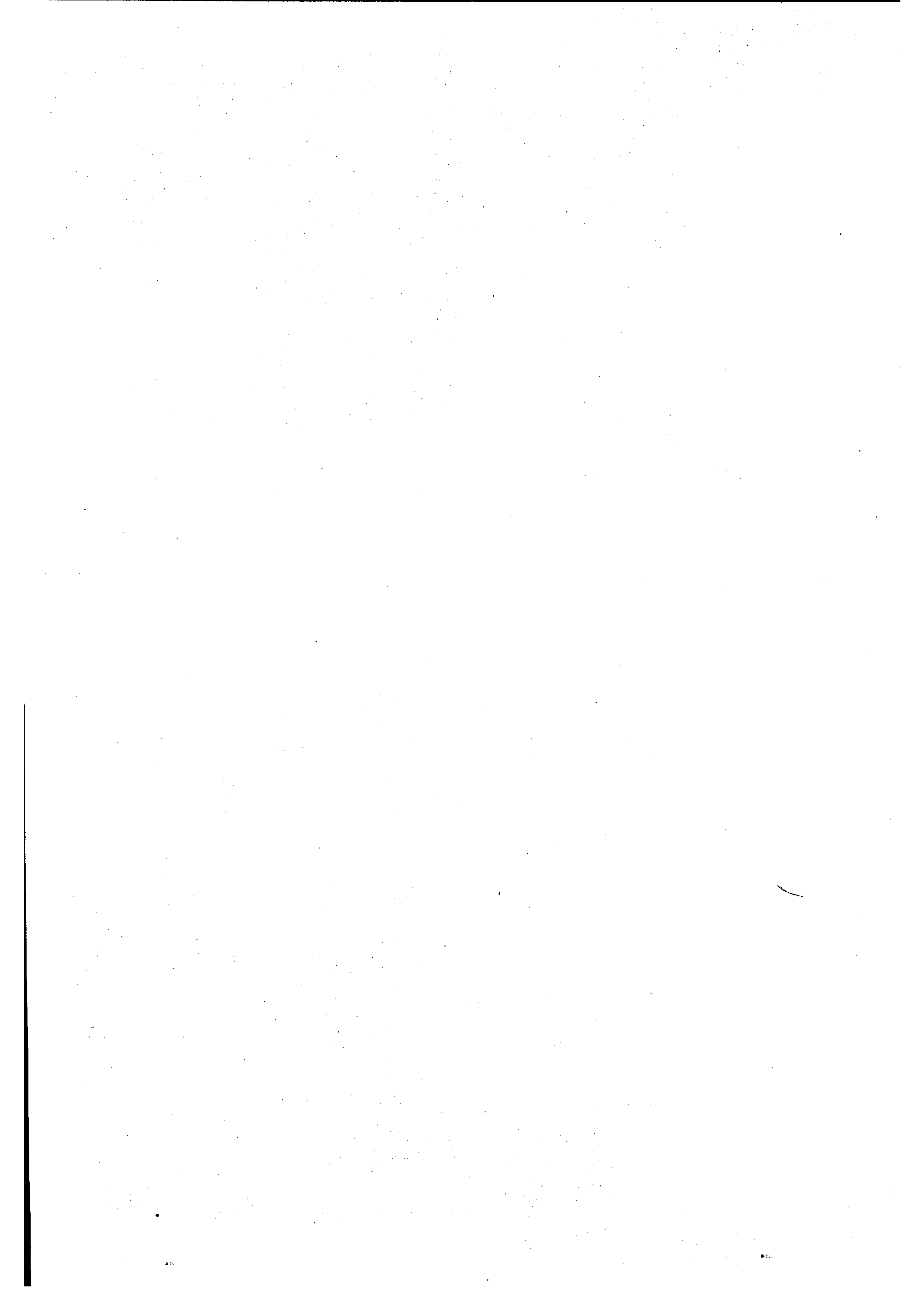
المحتويـــات

الموضوع		الصفحة

﴿الباب العاشر - الفصل الأول﴾
الطاقة الحيوية

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة



﴿الباب العاشر﴾

الطاقة الحيوية والأيض الغذائى البكتيرى
Bioenergetics and Bacterial Metabolism

﴿الباب العاشر - الفصل الأول﴾
الطاقة الحيوية Bioenergetics

الطاقة الحرة المتغيرة : Free-energy change

تحصل معظم الكائنات المجهرية على الطاقة اللازمة لها ، من تفاعلات كيميائية تتم بداخل خليتها ، ويتحرر منها طاقة . وحتى الخلايا القادرة على استخدام الضوء كمصدر للطاقة فإن الطاقة الضوئية المكتسبة، تتحول بداخل الخلية إلى طاقة كيميائية ، لتصبح الطاقة المكتسبة صالحة للقيام بعمل بداخل الخلية .

ومن خلال التفاعل الكيميائى ، فإن الطاقة الميسرة للقيام بعمل ، إما أن تنطلق من التفاعل أو تمتص بالتفاعل ، وتعرف كمية الطاقة المنتجة أو الممتصة خلال التفاعل الكيميائى بالطاقة الحرة المتغيرة Free-energy change, ΔG ، والطاقة الحرة المتغيرة ، هى طاقة نافعة Useful energy ، وتقدر بالكالورى Calory* ، وتأخذ إشارة موجبة أو سالبة ، حسب طبيعة التفاعل الكيميائى الذى يتم .

فإذا كانت ΔG لتفاعل ما ذات إشارة سالبة (مثل -٧٣٠٠ كالورى) ، فهذا يعنى أن هذا التفاعل منتج لطاقة Exergonic reaction قدرها ٧٣٠٠ كالورى/مول ، أما إذا كانت ΔG للتفاعل الكيميائى ذات إشارة موجبة مثل (+ ٥٠٠٠ كالورى) ، فإن ذلك يعنى أن هذا التفاعل يحتاج الى طاقة Endergonic reaction ، قدرها ٥٠٠٠ كالورى/مول .

وفى التفاعل الكيميائى ، فإن تركيز المواد المتفاعلة يؤثر على قيمةΔG ، وللتمكن من إجراء مقارنات سليمة بين التفاعلات الكيميائية المختلفة ، فإننا سنفترض أن التفاعل يتم تحت ظروف التركيز القياسى Standard concentration ، حيث تركيز كل مواد التفاعل هو ١,٠ مولر فى الحالة الثابتة 1 M in the steady state ، وتحت هذه الظروف ، يعرف التغير فى الطاقة الحرة ، بأسم التغيرالقياسى فى الطاقة الحرة Standard free-energy change ، ويرمز له بالرمز ΔG° ، حيث ΔG° هى كمية الطاقة الحرة المنتجة أو الممتصة خلال التفاعل الكيميائى ، وذلك عند تحول واحد مول Mole مادة تفاعل الىٰ واحد مول ناتج تفاعل ، عند درجة حرارة ٢٥°م ، وتحت ضغط واحد جوى ، مفترضين أن جميع مواد التفاعل ونواتج التفاعل محفوظة عند تركيز ثابت ، قدره واحد مولر .

---

* الكالورى Calory : وحدة قياس الحرارة ، وهو عبارة عن كمية الحرارة اللازمة لرفع درجة حرارة واحد جرام من الماء ، درجة واحدة مئوية .

ترتبط ΔG^{o} بثابت الاتزان Keq الخاص بالتفاعل الكيميائى، حسب المعادلة $\Delta G^{o} = -RT\ In\ Keq$
حيث R = ثابت الغازات (١,٩٨٧ كالورى/جم مول) ،
T = درجة الحرارة المطلقة (٢٧٣ + درجة الحرارة المئوية ،°م)

فإذا ماكانت قيمة ΔG^{o} بالسالب ، فإن قيمة Keq تصبح أكبر من ١,٠ ، ويتجه التفاعل ناحية تكوين النواتج ، أما إذا كانت قيمة ΔG^{o} بالموجب ، فإن قيمة Keq ستصبح أقل من ١,٠ ، ويتجه التفاعل إلى الاتجاه العكسى .

ومن المعادلة السابقة ، يمكن حساب قيمة ΔG^{o} من ثابت الإتزان Keq التفاعل الكيميائى . على سبيل المثال ، ففى التفاعل الكيميائى التالى

$$\text{Glucose - 1-P} \rightleftharpoons \text{Glucose - 6 - P}$$

الذى يحفزه إنزيم Phosphoglucomutase عند درجة ٢٥°م ، فإن قيمة ΔG^{o} تحسب كالتالى

$$Keq\ of\ \frac{glucose - 6 - P}{glucose - 1 - P} = 17$$

$$\Delta G^{o} = -RT\ In\ Keq$$
$$= -2.303\ RT\ log\ Keq$$

وبالتعويض عن قيم المعادلة فإن

$$\Delta G^{o} = -2.303\ RT\ log\ 17$$
$$= -2.303\ (1.987)\ (298)\ log\ 17$$
$$= -1.680\ cal / mole$$

وحيث أن قيمة ΔG^{o} من الحساب السابق ، كانت سالبة ، فإن ذلك يعنى أن التفاعل يتجه من اليسار الى اليمين ، أى ناحية تكوين النواتج ، وذلك تحت الظروف القياسية .
وتحت الظروف الفسيولوجية للايض الغذائى ، فان ظروف التفاعل الكيميائى من حيث تركيز مواد التفاعل ، و ق يد pH ، ودرجة الحرارة ... الخ ، تصبح غير قياسية بخلاف ماحدث فى التفاعل السابق ، وهنا تقدر القيمة الفعلية للطاقة الحرة المتغيرة ΔG .

وبفرض أن التفاعل الكيميائى تحت الظروف الفسيولوجية يتم عند درجة ٣٨° ، وأن تركيز الجلوكوز - ٦ - فوسفات هو ١ × ١٠$^{-4}$ مولر ، وتركيز الجلوكوز - ١ - فوسفات هو ٣ × ١٠$^{-5}$ مولر . وباستخدام المعادلة التالية ، تقدر قيمة ΔG

$$\Delta G = \Delta G^{o} + 2.303\ RT\ log\ Keq$$

وبالتعويض ، فان

$$\Delta G = -1.680 + 2.303\ (1.987)\ (311)\ \ log\ \frac{(1x10^{-4})}{(3x10^{-5})}$$
$$= -1.680 + 1.423\ log\ 3.3$$
$$= -1.680 + 740$$
$$= -940\ cal/mole$$

وعلى ذلك ، فانه تحت الظروف الفسيولوجية للخلية ، فان التفاعل يتجه من اليسارالى اليمين .

ويمكن أيضا تقدير قيمة التغير القياسى فى الطاقـــة الحـــرة ΔG° ، فـــى التفـــاعلات الكيميائية المنتجة للطاقة ، التى يحدث بها انتقال للالكترونـــات ، وتغـــير فـــى جـــهد الأكســـدة والإختزال ، وذلك باستخدام المعادلة التالية $\Delta G^\circ = n\ FE^\circ$ حيث

n - عدد مولات الالكترونات المنقولة فى التفاعل
F - ثابت فارادای (٢٣,٠٦١ كالورى/فولت)
E° = الفرق فى جهد الأكسدة والاختزال القياسى بالفولت

على سبيل المثال ، تقدر قيمة ΔG° كالآتى ، وذلك فى التفاعل الذى يتأكسد فيه سيتوكروم ســى بواسطة الأكسجين ، ويتحول من حالة حديدوز إلى حالة حديديك ، علمـــاً بـــأن E° = + ٠,٥٦ فولت

$$2\ \text{Cytochrome c - } Fe^{2+}\ (\text{reduced}) + \tfrac{1}{2}\ O_2 \longrightarrow 2\ \text{Cytochrome c- } Fe^{3+}\ (\text{oxidized}) + O^{2-}$$

$$\Delta G^\circ = -2\ (23.061)\ (0.56)$$

$$= -25.828\ \text{cal/mole}$$

التفاعلات الازدواجية : Coupling reactions

لكى تستمر التفاعلات الحيوية بالخلية ، وتتواصل حياة الكائن ، فإنه من الضرورى أن تستخدم الطاقة الناتجة من تفاعل منتج للطاقة Exergonic ، فى إجـــراء التفـــاعلات المحتاجـــة للطاقة Endergonic ، ويتم ذلك عن طريـــق مـــايعرف بالتفـــاعلات الازدواجيـــة Coupling reactions .

وفى هذه التفاعلات الازدواجية ، تقوم مواد تفاعل مشـــتركة Common reactants ، مثل مركب ADP ، بالربط بين التفاعلات المنتجة للطاقة ، وتلك المحتاجة لها ، حيث تقوم مـــادة التفاعل المشتركة بتخزين الطاقة المنتجة من التفاعل المنتج للطاقة ، ثم تقوم بنقل الطاقة المخزنة بها ، الى التفاعل الذى يحتاج للطاقة .

مثالا على ذلك ، ففى التفاعلين التاليين

$$1)\ A \longrightarrow B \qquad \Delta G^\circ \text{ at pH 7.0} = -10{,}000\ \text{cal}$$

$$2)\ C \longrightarrow D \qquad \Delta G^\circ \text{ at pH 7.0} = +5{,}000\ \text{cal}$$

فان الطاقة المنتجة من التفاعل (1) ، يمكن أن يستخدم جزء منها لإتمام التفاعل (2) ، ويتم ذلـــك بالربط بين التفاعلين بنظام يسمح بتخزين الطاقة المنتجة من تفاعل (1) ونقلها الى تفـــاعل (2) المحتاج للطاقة ، وذلك عبر مادة تفاعل مشتركة ، كما يتضح مما يلى

$$3)\ A + X \longrightarrow B + Y \qquad \Delta G^\circ = -2000\ \text{cal}$$

$$4)\ C + Y \longrightarrow D + X \qquad \Delta G^\circ = -3000\ \text{cal}$$

نلاحظ أن Y هى مادة التفاعل المشتركة بين تفاعلى (3, 4) ، ففى تفـــاعل (3) ، فـــإن الطاقـــة المنتجة كانت ٢٠٠٠ كالورى ، بما يعنى أن ٨٠٠٠ كـــالورى (مـــن الطاقـــة الكليـــة ١٠ آلاف المنتجة فى تفاعل ١) ، استخدمت لتحويل المركب X الى Y ، وحفظت بالمركب Y .

وفى تفاعل (4) ، تحولت Y ثانية إلى X مطلقة طاقة قدرها ٣ آلاف كالورى ، وفى نفس الوقت تحول مركب C ⟵ D ، بما يعنى أن ٥ آلاف كالورى من الـ ٨ آلاف كالورى التى كانت مخزنة فى مادة التفاعل المشتركة Y ، قد استخدمت لتحويل C ⟵ D .
مواد التفاعل المشتركة الشائعة الاستخدام فى التفاعلات الحيوية ، مركبات عالية الطاقة Energy-rich compounds ، وتعرف باسم المركبات الناقلة لكميات كبيرة من الطاقة High-energy-transfer compounds, ، ولعل من أهمها مركب ATP ، Adenosine triphosphate .

ويوضح الجدول التالى[١٠ (١)- ١] بعض المركبات الخلوية ، الناقلة لكميات كبيرة من الطاقة.

جدول ١٠ (١) - ١ : بعض المركبات الناقلة لكميات كبيرة من الطاقة ، التى توجد بالخلايا .

المركب *	كمية الطاقة الناتجة من تحلل المركب عند ق يد ٧,٠ كيلو كالورى/ مول
ATP, Adenosine triphosphate	٧,٣
GTP, Guanosine triphosphate	٧,٣
UTP, Uridine triphosphate	٧,٣
CTP, Cytidine triphosphate	٧,٣
Acetyl phosphate	١٠,١
1,3 Diphosphoglyceric acid	١١,٨
PEP, Phosphoenol pyruvic acid	١٤,٨

• جميع مركبات هذا الجدول ، قادرة على نقل طاقتها الى مركب ATP .

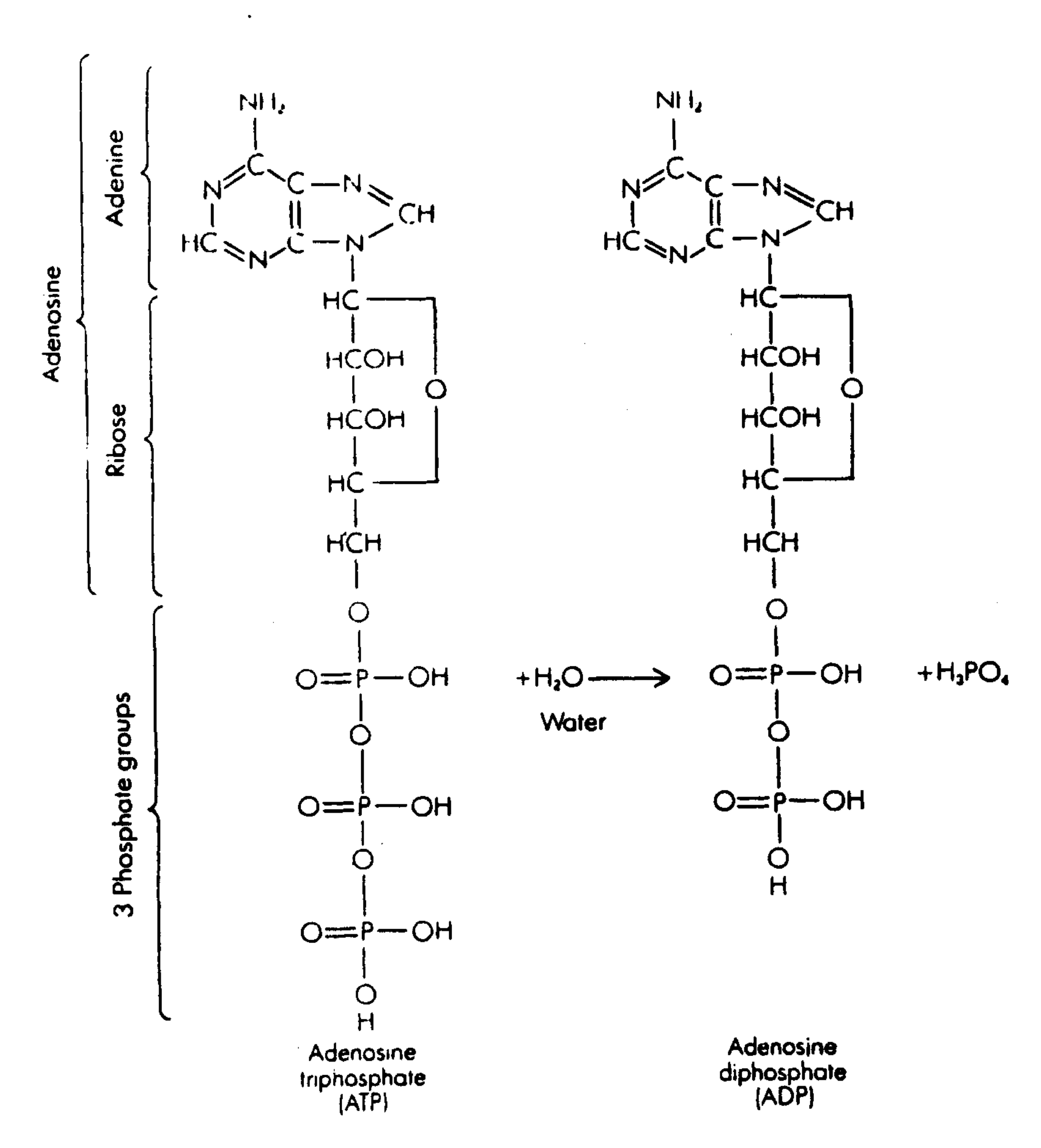
تتحرر الطاقة من مركبات ATP & ADP [شكل ١٠ (١) -١] بالتحلل المائى ، وهى مركبات غنية بالطاقة ، وتتوقف كمية الطاقة الناتجة من هذه المركبات على ظروف الوسط ، خاصة (ق يد) ، وتركيز ATP ، ADP ، Mg^{2+} ... الخ ، وتحت الظروف المعتادة وعند ق يد ٧,٠ ، فإن كمية الطاقة المتحررة بالتحلل المائى من ATP أو ADP = ٧,٣ كيلو كالورى/مول، حسب المعادلة

$$ATP + H_2O \longrightarrow ADP + H_3PO_4 \quad \Delta G^\circ = -7.3\ k\ cal/mol$$
$$ADP + H_2O \longrightarrow AMP + H_3PO_4 \quad \Delta G^\circ = -7.3\ k\ cal/mol$$

أما مركب AMP, Adenosine monophosphate فانه مركب فقير فى الطاقة Low-energy comopound ، وينتج عند تحلله مائياً ٢ كيلو كالورى/مول .

تفاعلات الأكسدة والاختزال : Oxidation-reduction reactions

تعتبر تفاعلات الأكسدة والاختزال ، من التفاعلات الخلوية الهامة ذات العلاقة بالطاقة. والأكسدة كما هو معروف ، هى فقد فى الالكترونات ، بينما الاختزال هو إكتساب للالكترونات ، وغالباً ماتكون عمليات الأكسدة الخلوية ، فقد لذرات الايدروجين بما يصاحب تلك الذرات من الكترونات ، إذ أن ذرة الايدروجين تتكون من بروتون والكترون .



شكل ١٠ (١) – ١ : التحلل المائى لمركب ثلاثى فوسفات الأدينوزين

$$ATP + H_2O \longrightarrow ADP + H_3PO_4 \quad \Delta G^\circ = -7.3 \text{ k cal/mol}$$

ونلاحظ فى تفاعلات الاكسدة والاختزال مايلى

أ - يقوم عامل الأكسدة Oxidizing agent, Oxidant ، بإمتصاص الالكترونات ، ونتيجة لذلك فإن العامل المؤكسد يختزل ، كما يتضح من الأمثلة التالية

١- إمتصاص العامل المؤكسد ايون الحديديك للإلكترونات ، وإختزاله الى أيون الحديدوز

$$Fe^{3+} + e^{`} \longrightarrow Fe^{2+}$$

Ferric ion	**Electron**	**Ferrous ion**
أيون جديديك	**الكترون**	**أيون حديدوز**

٢- امتصاص العامل المؤكسد أيون الايدروجين للالكترونات ، واختزاله الى ذرة إيدروجين

$$2H^{+} + e^{`} \longrightarrow 2H$$

أيون إيدروجين	**الكترون**	**ذرة إيدروجين**
بروتون		**(بروتون مصاحب لالكترون)**

٣- إمتصاص العامل المؤكسد حامض الفيوماريك لذرات الإيدروجين (تحتوى على بروتونات والكترونات) ، واختزاله الى حامض سكسنيك

$$\begin{array}{c} COOH \\ | \\ CH \\ || \\ CH \\ | \\ COOH \end{array} + 2H^{+}\ 2e^{`} \longrightarrow \begin{array}{c} COOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \end{array}$$

حامض فيوماريك — **حامض سكسنيك**

ب - يقوم عامل الاختزال Reducing agent, Reductant ، بمنح الالكترونات ، ونتيجة لذلك فإن العامل المختزل يؤكسد ، كما يتضح من المثال التالى

$$Fe^{2+} \longrightarrow Fe^{3+} + e^{`}$$

أيون حديدوز	**ايون حديديك**	**الكترونات**

حيث يفقد العامل المختزل أيون الحديدوز الالكترونات ، ويؤكسد الى أيون الحديديك

ونلاحظ مما سبق

- أن عمليات الأكسدة والاختزال عمليات عكسية .
- أنه فى كل تفاعل أكسدة واختزال يشارك فى التفاعل زوج من المواد ، أحدهما فى الصورة المختزلة ، والثانى فى الصورة المؤكسدة ، مثل أيون الحديدوز وأيون الحديديك ، وحامض السكسنيك وحامض الفيوماريك .

- يشكل كل زوج من ازواج المواد المتفاعلة فى تفاعلات الأكسدة والاختزال ، نظاماً يسمى نظام الأكسدة والاختزال Oxidation-reduction system, O/R system .
- قد يميل أحد أنظمة الأكسدة والاختزال التى بالتفاعل ، الى امتصاص الالكترونات من نظام أكسدة واختزال أخر ، وهذا يعنى أن النظام الأول قادر على أكسدة النظام الثانى ، ويتوقف ذلك على جهد الأكسدة والاختزال لكل نظام ، فالنظام الأعلى جهداً هو القادر على أكسدة النظام الأقل جهداً .

يعبر عن قدرة نظام الأكسدة والاختزال O/R system فى التفاعل الجارى ، على إمتصاص الالكترونات تحت ظروف قياسية ، بجهد الأكسدة والإختزال القياسى Standard oxidation-reduction potential أو بجهد القوة الدافعة الكهرائية Electromotive potential ، ويقاس الجهد كهربائيا تحت ظروف قياسية (تركيز ١ مولر ، حرارة ٢٥°م ، ق يد ٧,٠ ...) ، ويرمز له بالرمز Eo ويقدر بالفولت [جدول ١٠ (١) - ٢] .

جدول ١٠ (١) - ٢[١] : مكونات نظم الأكسدة الإختزال O/R system بالسلسلة التنفسية بالخلية وقيمة Eo لكل نظام .

[١] **Ref: Pelczar *et al*, 1986.**

نظام الأكسدة والاختزال O/R system	قيمة Eo بالفولت (**)
$NAD^+ / NADH + H^+$ (*)	٠,٣٢-
$Flavoprotein / Flavoprotein - H_2$	٠,٠٣-
$Co Q / CoQ - H_2$	٠,٠٤+
$Cyt\ b - Fe^{3} / Cyt\ b - Fe^{2-}$	٠,٠٧+
$Cyt\ c_1 - Fe^{3+} / Cyt\ c_1 - Fe^{2-}$	٠,٢١+
$Cyt\ c - Fe^{3+} / Cyt\ c - Fe^{2-}$	٠,٢٣+
$Cyt\ a - Fe^{3+} / Cyt\ a - Fe^{2-}$	٠,٢٩+
$Cyt\ a_3 - Fe^{3+} / Cyt\ a_3 - Fe^{2-}$	٠,٥٣+
Oxygen / Water	٠,٨٢+

(*) قد يشار إلى $NADH + H^+$ بـ $NADH_2$ أو NADH فقط ، حيث أن ذرة H الأخرى تظهر كايون H^+ حر

(**) كلما زادت قيمة Eo الموجبة ، كلما إزدادت قدرة نظام O/R system على الأكسدة ، بمعنى أن أى نظام بالجدول ، يستطيع أن يؤكسد النظام الذى فوقه ، وليس الذى أسفله . ولهذه العلاقة أهميتها لفهم نظام تسلسل الأكسدة الحيوية الذى يحدث بالخلية .

وعندما يؤكسد نظام O/R system نظاماً أخراً فى سلسلة التفاعل الجارية بالخلية ، فإن الطاقة تنطلق ، ومن الأهمية معرفة قيمة Eo لأى نظام أكسدة وأختزال O/R system ، لأن هناك إرتباط بين Eo لأى نظام أكسدة واختزال ، وبين كمية الطاقة الحرة المتغيرة $\Delta G°$ ، فإذا كان فرق الجهد كبيراً ، فإن كمية الطاقة الحرة المنطلقة ، ستكون كافية لتخليق ATP .

المُستَقبِل النهائى للإلكترونات : Final electron acceptor

فى التنفس الخلوى ، فان مواد التفاعل القابلة للأكسدة ، هى المصدر الرئيسى المانح للالكترونات ، أما المستقبل النهائى للالكترونات ، فانه يختلف بإختلاف نوع وظروف الكائنات

* ففى حالة التنفس الهوائى ، فإن المستقبل النهائى للالكترونات هو الأكسجين
* وفى حالة التنفس اللاهوائى ، فان المستقبل النهائى للالكترونات هو مركبات مثل

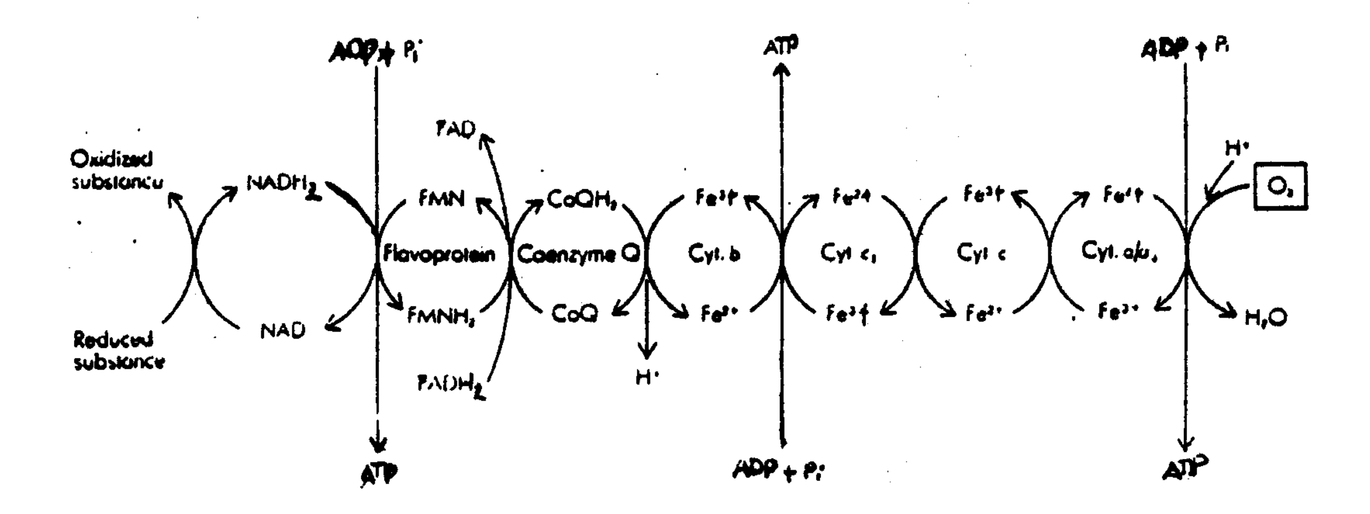
Fumarate, NO_3^- , SO_4^{2-} , CO_3^{2-}

* فى حالة التخمرات ، فإن المستقبل النهائى للإلكترونات هو المركبات العضوية ، والمواد القابلة للأكسدة هى المانحة للإلكترونات
* فى حالة التمثيل الضوئى البكتيرى ، فإن الكلوروفيل البكتيرى هو المانح وهو المستقبل أيضاً للالكترونات
* فى حالة التمثيل الضوئى الذى يتم بواسطة السيانوبكتريا والطحالب والنباتات ، فإن الماء هو المانح للالكترونات ، و Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate , $NADP^+$ هو المستقبل النهائى للالكترونات

مسار الالكترونات : Electron path

يسمى المسار الذى تسير فيه الالكترونات فى تفاعلات الأكسدة والاختزال الخلوية ، بالسلسلة الناقلة للالكترونات Electron-transport chain ، فهذه السلسلة الناقلة هى عبارة عن تتابعات من تفاعلات الأكسدة والاختزال التى تحدث بالخلية ، ويساعد على إتمام هذه السلسلة من التفاعلات المتتابعة ، ناقلات الالكترونات والانزيمات الناقلة للالكترونات ، كما سيفصل فيما بعد .

وعند إنتقال الالكترونات من تفاعل لآخر خلال تلك السلسلة ، فإن جزءاً من الطاقة الناتجة يحفظ فى صورة ATP ، وهى عملية تسمى بالفسفرة التأكسدية Oxidative phosphorylation ، أو بفسفرة السلسلة التنفسية Respiratory chain phosphorylation ، وتتكون جزيئات ATP فى ثلاث مواضع بالسلسلة التنفسية كما هو موضح بالشكل [١٠ (١) - ٢] ، (راجع فسفرة مستوى مادة التفاعل والفسفرة التأكسدية ص ٧٤١ ومايليها) .



شكل ١٠ (١) – ٢ : نموذج مختصر لسلسلة تنفسية

لاحظ أن

- التأكسد يتم بالتتابع وعلى خطوات متتالية
- إنتقال الالكترونات يكون مصحوبا بتدفق بروتونات (H^+) من $NADH_2$ حتى CoQ ، وليس فى مراحل تالية لذلك
- تحرر كمية كافية من الطاقة ، فى مواقع محددة ، تكفى لتخليق ATP :
  تكون ٣ جزئيات ATP من تأكسد جزيء $NADH_2$ ، وتكون ٢ جزئ ATP من تأكسد جزيء $FADH_2$

وترتبط السلسلة الناقلة للإلكترونات دائما بأغشية الخلية ، ففى حالة الخلايا بدائية النواه ، فإن تلك السلسلة توجد بالغشاء السيتوبلازمى للخلية ، أما فى حالة الخلايا حقيقية النواة ، فإن تلك السلسلة توجد فى أغشية الميتوكوندريا ، وفى أغشية الكلوروبلاست .

وتوجد الانزيمات المحفزة لتكوين ATP عند أكسدة NADH بالسلسلة التنفسية ، فى نفس السلسلة الناقلة للالكترونات ، مما يضمن للخلية استغلال الطاقة المحررة عند إعادة الأكسدة فى تكوين روابط فوسفاتية غنية بالطاقة ، كما أن انتقال الالكترونات من مادة التفاعل العضوية، إلى المرافقات الانزيمية بالسلسلة التنفسية حتى مستقبلها النهائى ، يحقق تجديد الصورة المؤكسدة للمرافقات الإنزيمية التى بالسلسلة التنفسية .

مكونات السلسلة الناقلة للالكترونات

يوضح الشكل [١٠ (١) – ٢] والجدول [١٠ (١) – ٢] ، مكونات نظم الأكسدة والاختزال O/R systems للسلسلة الناقلة للالكترونات بالخلية ، وتتم التفاعلات بهذه السلسلة بالتتابع بشكل متسلسل ، وذلك حسب قيمة Eo لكل نظام ، كما هو موضح بجدول [١٠ (١) – ٢] .

يشارك فى نقل الالكترونات بالسلسلة التنفسية خمسة أنواع مختلفة من ناقلات الالكترونات ، تضم ثلاثة أنواع من إنزيمات الأكسدة والإختزال وبروتينات الحديد اللاهيمى Non-heme iron proteins والكينونات Quinones . وتشمل انزيمات الأكسدة والاختزال : الديهيدروجينات المرتبطة بالبيريدين ، والديهيدروجينات المرتبطة بالفلافين ، والسيتوكرومات .

وفيما يلى وصف لأهم مميزات وخصائص كل من هذه الناقلات ، حسب تسلسلها فى السلسلة الناقلة للالكترونات ، من مادة التفاعل الى المستقبل النهائى للألكترونات .

أ - مجموعة إنزيمات الديهيدروجينات المرتبطة بالبيريدين
Pyridine-linked dehydrogenases

وهى تضم قرائن انزيم كل من

* Nicotinamide adenine dinucleotide, NAD &

* Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADP

وقد سميت هذه المجموعة من الانزيمات بالديهيدروجينات المرتبطة بالبيريدين ، لكونها نازعه للايدروجين وتحتاج فىعملها الى المرافق الانزيمى NAD ، أو المرافق الانزيمى NADP ، اللذان يحتويان فى تركيبهما على النيكوتين أميد ، الذى هو مشتق من البيريدين .

وتقوم هذه الإنزيمات بنزع أيونات الايدروجين والالكترونات من المركبات المختزلة ، ويشكل NAD^+ مع صورته المختزلة $NADH + H^+$ نظام أكسدة واختزال O/R system ، وكذلك $NADP^+$ مع $NADPH + H^+$.

وتحفز هذه المجموعة من الانزيمات التفاعلين التاليين

1) Reduced substrate + NAD^+ $\rightleftharpoons$ Oxidized substrate + NADH + H^+

2) Reduced substrate + $NADP^+$ $\rightleftharpoons$ Oxidized substrate + NADPH + H^+

ويوضح هذين التفاعلين ، أن هذه الانزيمات تنقل مكافيىء الاختزال من مادة التفاعل المختزلة ، إلى الصورة المتأكسدة من نيوكليوتيد البيريدين (NAD^+ or $NADP^+$) ، حيث يظهر أحد المكافئين فى نيوكليوتيد البيريدين المختزل (NADH or NADPH) كذرة إيدروجين ، فى حين يظهر المكافئ الآخر فى صورة الكترون . أما ذرة الايدروجين الأخرى المنزوعة من مادة التفاعل المختزلة ، فإنها تظهر فى وسط التفاعل فى صورة بروتون (H^+) .

وعلى الرغم من إحتواء جميع الخلايا الحية على المرافقين NAD & NADP ، إلا أنه عادة ماتكون نسبة NAD فى الخلية أعلى من نسبة NADP ، وفضلاً عن ذلك ، فان هناك نوعاً من التخصص فى توزيع وعمل هذين المرافقين الانزيمين بين أجزاء الخلية ، حيث تقوم إنزيمات الديهيدروجينيز المرتبطة بـ NAD بالعمل بالدرجة الأولى فى تفاعلات التنفس ، والمساهمة فى نقل الالكترونات من مادة التفاعل تجاه العامل المؤكسد النهائى (الأكسجين) .

أما إنزيمات الديهيدروجينيز المرتبطة بـ NADP ، فإنها تعمل بالدرجة الأولى فى نقل الالكترونات الناتجة ، عن الأيض الهدمى لمواد التفاعل ، الى تفاعل الأيض البنائى الاختزالى ، كتفاعلات تخليق الأحماض الدهنية .

وعلى الرغم من وجود نوع من تخصص إنزيمات الديهيدروجينيز تجاه NAD & NADP ، إلا أن بعضا من هذه الانزيمات مثل Glutamate dehydrogenase ، يمكنه أن يستخدم أيا من مرافقى الانزيم NAD أو NADP .

٢- مجموعة إنزيمات الديهيدروجينات المرتبطة بالفلافين

Flavin-linked dehydrogenases

وهى تضم المجموعات المنضمة Prosthetic groups التالية

* Flavin adenine dinucleotide, FAD

* Flavin mononucleotide, FMN

تعرف هذه المجموعة من الانزيمات أيضـا باسـم الفلافوبروتينـات ، هـى تشـمل الديهيدروجينات التى تحتوى على المجموعة المنضمة FAD أو FMN ، والصورة المختزلـة لهذه المجموعات المنضمة هى $FADH_2$ و $FMNH_2$ ، والجزء الفعال بمجموعتى الـ FAD و FMN هو أيسو الوكسازين Isoalloxazine الداخل بتركيب الرايبوفلافين ، أذ يدخل فى تركيب هذه المجموعات المنضمة ، فيتامين الرايبوفلافيـن Riboflavin فـى الصـورة المؤكسـدة أو المختزلة ، مشكلا نظام أكسدة وإختزال O/R system

$$\text{Riboflavin} + 2\,H \rightleftharpoons \text{Riboflavin} - H_2$$

إن إرتباط مجموعة FAD أو مجموعة FMN بالبروتين الانزيمى ، هو ارتباط محكم، كما قد تحتوى إنزيمات الفلافوبروتينات على أكثر من جزئين من FAD أو من FMN .

ويعبر عادة عن أكسدة مادة التفاعل ، بإنتقال ذرتى إيدروجين من مادة التفاعل الى FAD أو الى FMN ، لتنتج الصورة المختزلة للفلافين وهى $FADH_2$ أو $FMNH_2$.

٣- مجموعة بروتينات الحديد اللاهيمى Non-heme iron proteins

تقوم هذه المجموعة بنقل الالكترونات ، وهى توجد مرتبطة بمجموعة مـن إنزيمـات السلسلة التنفسية خاصة إنزيمات NAD-H dehydrogenases ، وقد سميت بمجموعة بروتينات الحديد اللاهيمى ، لأن الحديد الداخل فى تركيب الجزىء ، يوجد بصورة مغايرة لتركيب الحديـد الداخل فى تركيب مجاميع الهيم .

يدخل فى تركيب بروتين هذه المركبات ، ذرات من الحديد والكبريت Fe-S-protein ، تختلف فى أعدادها من نوع بروتينى لاخر ، لذلك فاننا نجد من هذه المركبات انـواع متعـددة تختلف بإختلاف مكوناتها ، من سلاسل ببتيدية ومن أعداد ذرات الحديد والكبريت ، وتسمى هـذه المركبات حسب موقعها بالخلية ، أو الدور الذى تلعبه بها ، فمن أنواعها

Ferrodoxim . Redoxin. Rubredoxin. Adrenodoxin ... etc.

عموما ، فان مركبات Fe-S-proteins ، ذات وزن جزيئى منخفض ، ويتراوح Eo لها مابين -٠,٢ الى -٠,٦ ملليفولت ، ويتراوح عدد ذرات الحديد بالجزىء البروتينى مابين ٢ الـى ٨ ذرات ، كما يحتوى الجزىء على عدد مكافىء من الحامض الأمينى الكـبريتى ، السـستئين Cysteine . ويمثل الحديد الموجود بهذه الجزيئات حوالى ٨٠% من الحديد الموجود بالسلسـلة التنفسية ، بينما يوجد حوالى ٢٠% من حديد السلسلة التنفسية فى السيتوكروم .

ذرة الحديد الموجودة بجزىء Fe-S-protein ، ترتبط من جهة بكبريت الحامض الأمينى ، وترتبط من الجهة الأخرى بكبريتيد غير عضوى [شكل ١٠ (١) - ٣] ، وبمعاملة هذه البروتينات بالأحماض ، فإن الكبريت غير العضوى ينفرد ويعطى H_2S .

هذه المجموعة من البروتينات ذات الحديد والكبريت Fe-S-proteins ، تساهم فى عمليات حيوية عديدة ، مثل عمليات التمثيل الضوئى ، وتثبيت النتروجين ، واختزال الكبريتيت والنتريت ، وتحرير النتروجين ، وأكسدة البيروفات .

ويوضح الشكل [١٠ (١) - ٣] أهم مكونات السلسلة التنفسية

شكل ١٠ (١) - ٣ : التركيب البنائى لأهم مكونات السلسلة التنفسية

a : حلقة أيسوالوكسازين Isoalloxazine ring الخاصة بـ FAD و FMN ، فى صورتها المؤكسدة والمختزلة .

b : مركز (2 Fe + 2S) الخاص بالبروتين المحتوى على حديد وكبريت

c : اختزال الأوبيكينون Ubiquinone الى أوبيهيدروكينون Ubihydroquinone

d : سيتوكروم c .

٤- مجموعة الكينونات : Quinones

توجد الكينونات في كل الخلايا ، وهى مركبات من نوع الـ Benzoquinones ، قابلة للذوبان فى الدهون ، ومن أشهر هذه المركبات ، مركب الأوبيكينون Ubiquinone ، وتركيبه العام

$$\text{Benzoquinone ring: two C=O (para);}\ H_3CO-,\ H_3CO-,\ -CH_3,\ -[CH_2-CH=\underset{\displaystyle CH_3}{\overset{|}{C}}-CH_2]_n-H$$

Ubiquinine

يختلف طول السلسلة الجانبية (الأيسوبرينويد) الموجودة بالأوبيكينون ، باختلاف نوع الأوبيكينون الموجود بالخلية ، ويتراوح عدد وحدات الأيسوبرينويد (n) من ستة إلى عشرة . وفى حالة كون n = ١٠ بالأوبيكينون ، فانه يصطلح على تسمية هذا الكينون بالمرافق الانزيمى CoQ أو CoQ_{10} . وفى بعض أنواع البكتريا يكون عدد وحدات الأيسوبرينويد = ٦ ، وفى هذه الحالة تختصر التسمية الى CoQ_6 .

وتحتوى بعض أنواع البكتريا مثل المايكوبكتريا ، على Naphthoquinone كفيتامين K عوضا عن الـ Benzoquinone ، ويستطيع النافثوكينون أن يستقبل الالكترونات والايدروجين من عدد من انزيمات الديهيدروجينيز المرتبطة بالفلافين ، مثل سكسينات ديهيدروجينيز ، وجلسرول فوسفات ديهيدروجينيز .

تقوم الكينونات بنقل الايدروجين والالكترونات ، فهى قادرة على استقبال القوة الاختزالية من الفلافوبروتينات [شكل ١٠ (١) - ٢] ، وتمريرها عبر السلسلة التنفسية ، مع تحولها الى الصورة المختزلة ، حسب المعادلة

$$\text{Flavoprotein} - H_2 + \text{Ubiquinone} \rightleftharpoons \text{Ubiquinone} - H_2 + \text{Flavoprotein}$$

٥- مجموعة السيتوكرومات : Cytochromes

تشمل السيتوكرومات مجموعة من البروتينات المحتوية على الحديد ، تسمى بالبروتينات المرتبطة Conjugated proteins ، وبهذه البروتينات المرتبطة ، يوجد مجاميع من بورفيرينات الحديد Iron-porphyrins تحتوى على ذرة حديد واحدة ، هى المسئولة عن نشاط السيتوكروم التأكسدى والإختزالى .

والسيتوكرومات قادرة على أن تختزل وتتأكسد بصورة متبادلة ، بسبب إحتوائها على الحديد ، حيث يكون الحديد فى السيتوكروم المؤكسد فى صورة حديديك Fe^{3+} ، وعند إختزال السيتوكروم ، فإن الحديديك يختزل إلى حديدوز Fe^{2+} ، لاستقبال المدار الخارجى لذرة الحديد بالسيتوكروم ، لالكترون واحد ، وهذه الخاصية ، تمكن السيتوكرومات من القيام بوظيفتها فى نقل الإلكترونات بالسلسلة التنفسية ، وذلك من الاوبيكينون المختزل ($CoQ\text{-}H_2$) ، الى مستقبل الالكترونات النهائى ، وهو الأكسجين الجزيئى ، فى حالة الخلايا هوائية التنفس . وعند إعادة أكسدة $CoQ\text{-}H_2$ ، فإن السيتوكروم الملاصق للأوبيكينون يختزل .

تضم مجموعة السيتوكرومات ، خمسة أنواع من السيتوكرومات على الأقل ، هى حسب تسلسلها بالسلسلة التنفسية ، من مادة التفاعل الى المستقبل النهائى Cytochrome b, c_1, c, a & a_3 ، ولكل منها Eo الخاص بها [جدول ١٠ (١) - ٢] ، ويوجد كل نوع منها فى الصورة المؤكسدة أو فى الصورة المختزلة ، مثل

$$\underset{\text{حديديك}}{Cyt.\ b - Fe^{3+} + e^-} \rightleftharpoons \underset{\text{حديدوز}}{Cyt.\ b - Fe^{2+}}$$

وتتطلب عملية الأكسدة ، تفاعل جزيئين من السيتوكروم ، مع جزىء واحد كينون مختزل ، وذلك لأن المركب الأخير يقدم الكترونين ، يلزم لاختزالهما ٢ جزىء سيتوكروم ، حسب المعادلة

$$CoQ\text{-}H_2 + 2\ Cyt - Fe^{3+} \longrightarrow CoQ + 2\ Cyt - Fe^{2+} + 2H^+$$

وينطلق البروتونان ($2H^+$) الناتجان من التفاعل السابق ، الى الوسط المحيط بالتفاعل ، وترتبط البروتونات بمجموعة NH_2^-- أو بمجموعة COO^-- ،لأن السيتوكروم غير قادر على نقل الايدروجين ، ولكنه قادر على نقل الالكترونات فقط إلى مستقبلها النهائى ، بخلاف مجموعات NAD^+ . $NADPH^+$. Flavoproteins & Ubiquinone القادرة على حمل كل من بروتونات الايدروجين والالكترونات .

وكان يطلق على الناقل الأخير للإلكترونات فى مجموعة السيتوكرومات بالسلسلة التنفسية ، Cytochrome oxidase أو a_3 ، للاعتقاد بأنه نوع واحد من السيتوكروم ، ولكن أصبح يطلق عليه الأن اسم الأكسيديز الطرفى أو الإنهائى Terminal oxidase ، إذ وجد أنه يتكون من نوعين من السيتوكرومات ، هما a & a_3 . ويحتوى كلا من Cyt a & Cyt a_3 على النحاس بالإضافة إلى الحديد ، وسيتوكروم a_3 فقط ، هو الذى له القدرة على التفاعل مباشرة مع الأكسجين الجزيئى ، واختزاله الى ماء ، ويثبطه السيانيد وأول أكسيد الكربون.

وإختزال الأكسجين الجزيئى إلى ماء بواسطة الكترونات السلسلة التنفسية ، يحتاج الى أربعة الكترونات لكل مول من الأكسجين يتم إختزاله ، وذلك حسب المعادلة

$$4\ Cyt\ a_3 - Fe^{2+} + O_2 + 4\ H^+ \longrightarrow 4\ Cyt\ a_3 - Fe^{3+} + 2H_2O$$

مكونات السلسلة الناقلة للالكترونات فى البكتريا

لاتتواجد كل مكونات السلسلة التنفسية السابق الاشارة إليها فى السلاسل الناقلة للالكترونات بكل أنواع البكتريا ، بل تختلف الأنواع البكتيرية عن بعضها فى مكونات سلاسلها الناقلة للالكترونات، على سبيل المثال ، ففى بكتريا *E. coli* تتكون السلسلة من فلافوبروتينات وسيتوكرومات b, a_1 & a_2 ، وفى بكتريا *Azotobacter vinelandii* تتكون السلسلة من فلافوبروتينات وسيتوكرومات b, c_4, c_5, a_1 & a_2 .

فسفرة مستوى مادة التفاعل والفسفرة التأكسدية

Substrate-level phosphorylation and oxidative phosphorylation

تشمل تفاعلات الفسفرة ، التفاعلات الأيضية التى يتم فيها انتاج مركبات الفوسفور ذات الطاقة العالية ، ويتم ذلك باستخدام تغير الطاقة الحرة (السالبة) الذى يصاحب بعض التفاعلات الأيضية ، وتحويل جزء من هذه الطاقة الى روابط فوسفاتية غنية بالطاقة ، كما يحدث فى تحويل ADP الى ATP .

وإضافة إلى الفسفرة الضوئية *، فإن هناك نوعين آخرين من تفاعلات الفسفرة هما

١ - فسفرة مستوى مادة التفاعل Substrate-level phosphorylation .

وهنا تتكون الرابطة الفوسفاتية الغنية بالطاقة على مستوى مادة التفاعل .

ومن أمثلة تفاعلات فسفرة مستوى مادة التفاعل ، مايحدث فى بعض دورات الأيض الغذائى، مثل دورة التحلل الجليكولى ودورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل ، كما يتضح من التفاعلات التالية

1) 1,3 Diphosphoglyceric acid —(ADP → ATP)→ **3, Phosphoglyceric acid** ⟶ **Phosphoenolpyruvic acid**

2) Phosphoenolpyruvic acid —(ADP → ATP)→ **Pyruvic acid**

3) Succinyl - CoA —(ADP ← ATP)— **Succinic acid**

ويعتبر تفاعلى ١ و ٢ من أهم التفاعلات المنتجة للطاقة بالنسبة للبكتريا اللاهوائية ، إذ أن أغلب أنواع المجهريات المخمرة للكربوهيدرات ، تعتمد فى نشاطها ، على الطاقة التى تحصل عليها من أكسدة الفوسفوجلسريك الى بيروفيك .

---

* أنظر الفسفرة الضوئية ، الباب العاشر ، الفصل السادس ، ص ٨٢٩ ومايليها .

٢ – الفسفرة التأكسدية Oxidative phosphorylation

وهنا تتكون الرابطة الفوسفاتية الغنية بالطاقة ، من أكسدة المواد خلال السلسلة التنفسية بالخلية ، وتمتاز الفسفرة التأكسدية بإرتباطها بالسلسلة الناقلة للالكترونات ، ويعد هذا الازدواج بين نقل الالكترونات والفسفرة عملاً ضروريا لحياة الكائن الحى ، فالهدف الأساسى من هذا النظام بالخلية ، هو إنتاج الطاقة الضرورية للخلية لكى تقوم بانشطتها .

يأتى مصدر الطاقة اللازمة للفسفرة التأكسدية ، من تفاعلات إعادة أكسدة المرافقات الانزيمية المختزلة التى بالسلسلة التنفسية ، مثالاً على ذلك ، فإن أكسدة ١ مول NADH يصاحبه تغير سالب كبير فى الطاقة الحرة ، يقدر بحوالى (-٥٦,٦٠٠) كالورى / مول ، حسب المعادلة

$$NADH + H^+ + \frac{1}{2}O_2 \longrightarrow NAD^+ + H_2O \qquad \Delta G^\circ = -56,600\ cal$$

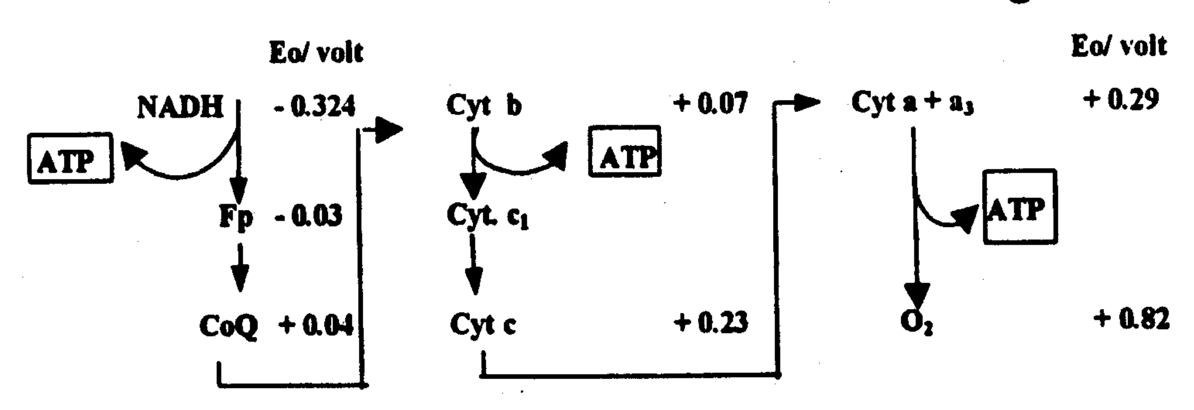
فإذا مالاحظنا أن تخليق واحد مول من ATP يحتاج لحوالى ٧٣٠٠ كالورى ، فإن كمية الطاقة الناتجة من التفاعل السابق ، ذات القيمة السالبة والمصاحبة لأكسدة مول واحد من NADH ، ستكون كافية لانتاج عدة مولات من ATP . وتتضح هذه الحقيقة من التفاعل العام لأكسدة NADH ، الذى يشمل تفاعلات الفسفرة المصاحبة للأكسدة

$$NADH + H^+ + \frac{1}{2}O_2 + 3\ ADP + 3\ H_3PO_4 \longrightarrow NAD^+ + 3ATP + 4\ H_2O$$

ويلاحظ من التفاعل السابق ، أن كل ذرة أكسجين يتم استهلاكها ، يقابلها إرتباط ثلاث ذرات فوسفور بروابط استر ، أى ان نسبة O:P تعادل ١:٣ ، وتعبر هذه النسبة عن نسبة عدد ذرات الفوسفور المؤسترة ، إلى عدد ذرات الأكسجين المستهلكة ، ولهذه النسبة أهمية كبيرة فى تقدير كفاءة عملية التنفس الخلوى .

ويتم إنتاج ATP بالسلسلة التنفسية على ثلاث دفعات ، وذلك عند خطوات معينة بالسلسلة الناقلة للالكترونات كما هو موضح بشكل [١٠ (١) – ٢] ، وينتج الجزىء الأول من جزيئات ATP ، بعد إعادة أكسدة NADH ، وينتج الجزىء الثانى بعد إعادة أكسدة سيتوكروم b وينتج الجزىء الثالث بعد إعادة أكسدة سيتوكروم c .

ويعتمد انتاج ATP فى تلك المواقع بالسلسلة التنفسية ، على قيم جهد الأكسدة والإختزال (Eo) بالفولت ، للنظم الداخله فى تركيب السلسلة التنفسية [جدول ١٠ (١) – ٢] ، كما يتضح من المخطط الاتى



ويلاحظ من المخطط السابق ، أن عملية الفسفرة بالسلسلة التنفسية ، تكـــون مصاحبـــة لخطوات الأكسدة المتميزة بفرق كبير فى جهد الأكسدة والاختزال (Eo) ، إذن أن فرق الجـــهد الكبير ، يوفر تغيراً كبيرا فى الطاقة الحرة(ΔG°) يكفى لإنتاج ATP ، طبقا للعلاقة الطرديـــة التى تربط ΔG° و Eo (راجع الطاقة الحيوية ، بأول هذا الفصل) .

وقد تختلف ميكانيكية نقل الإلكترونات فى السلسلة التنفسية بإختلاف الكائنات أو الوسـط ، ويمثل الشكل[١٠ (١) – ٤] رسم تخطيطى لنقل الالكترونات فى الميتوكوندريا وفى العديد مـــن البكتريا (الشكل "A") . وتحتوى هذه السلسلة التنفسية على ثلاثة أنواع بروتينية معقدة ، لـــها مجموعات منضمة Prosthetic مميزة .

وقد تتفرع السلسلة التنفسية كما فى بكتريا *Paracoccus denitrificans* ، (الشكل "B") ، حيث تنتقل الالكترونات عبر سيتوكروم ريداكتيز وسيتوكروم أكسيديز ، أو تنتقل مباشرة مـــن الـــ Ubiquinone إلـــى الأكســـجين عـــبر ســـيتوكروم أكســـيديز "o" ، كأكســـيديز طرفـــى Terminal oxidase .

بينما فى ميكروب *Escherichia coli* (الشكل "C") ، تنتقل الالكترونات الى الأكســـجين عـــبر سيتوكروم 'b' وسيتوكروم "o" (قليل التآلف للأكسجين) ، أو عبر سيتوكروم d (عالى التـــآلف تجاه الأكسجين ، الذى تخلقه البكتريا فى حالة نقص الأكسجين بالوسط) .

مثبطات السلسلة التنفسية : Respiratory chain inhibitors

تتأثر السلسلة التنفسية الخلوية ، أو قد تتوقف عن عملها تماماً ، فى وجود مواد ســـامه للخلية ، ويتوقف التأثير على نوع المادة السامة .

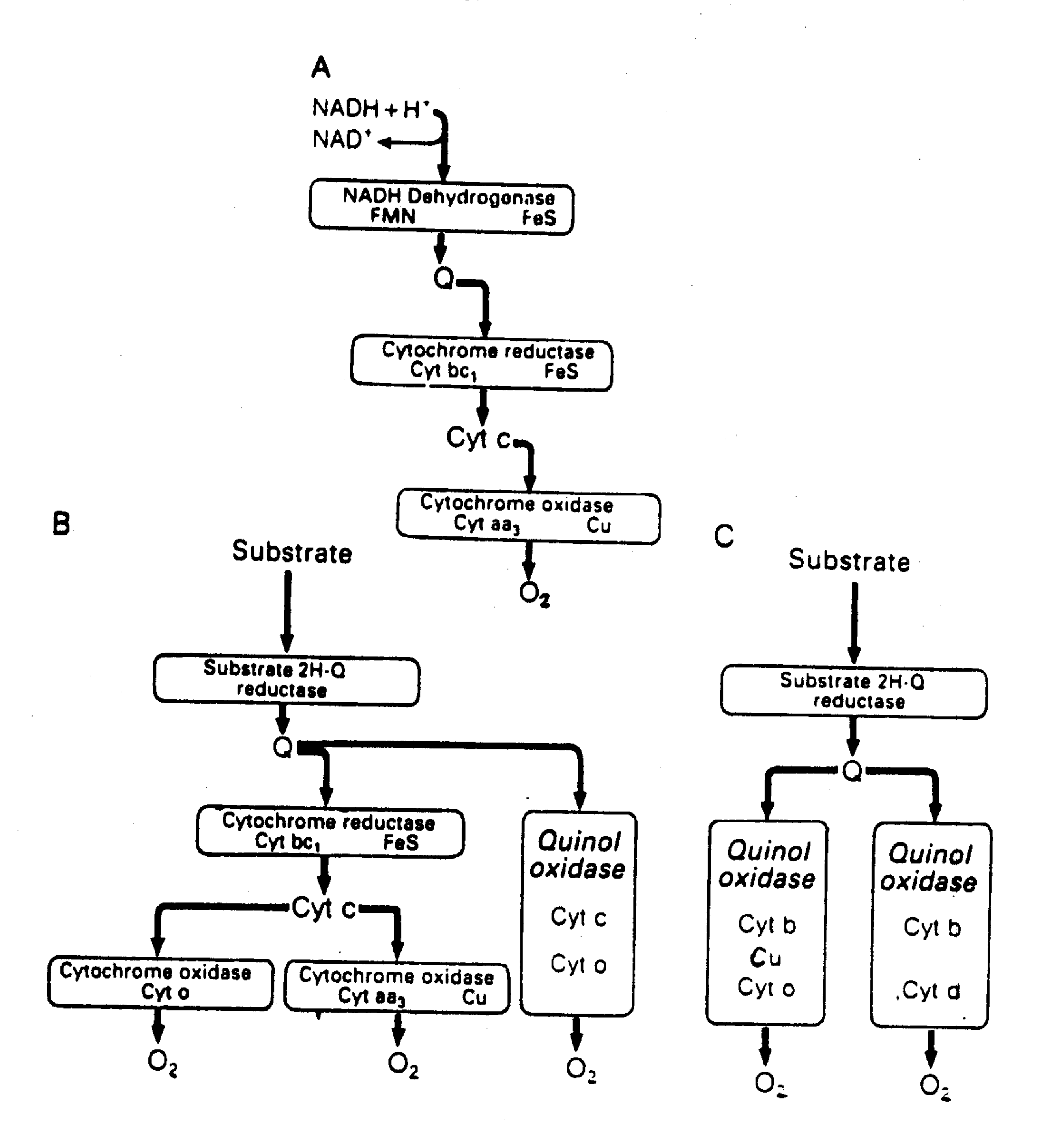
من هذه المواد

- السيانيد CN ، وأول أكسيد الكربون CO ، وتثبط هذه المـــواد نشـــاط إنزيـــم الســـيتوكرو- اكسيديز .
- المضادات الحيوية مثل

1) Gramicidine, 2) Oligomycin, 3) Rifamycin, 4) Valinomycin ... etc

من هذه المواد مثل (1 & 4) مايثبط عملية الفسفرة ، ومنها مواداً (مثل 2 & 3) تثبط كلا مـــن نقل الالكترونات والفسفرة

- مواد مثل Amtytal & Rotenone ، وتثبط هذه المواد عمل NAD dehydrogenase



شكل ١٠ (١) – ٤ : رسم تخطيطى للسلسلة الناقلة للالكترونات فى أغشية الميتوكوندريا ، وفى أغلب أنواع البكتريا

A : تحتوى السلسلة ثلاث مركبات بروتينية ذات مجموعات منضمة Prosthetic groups مميزة

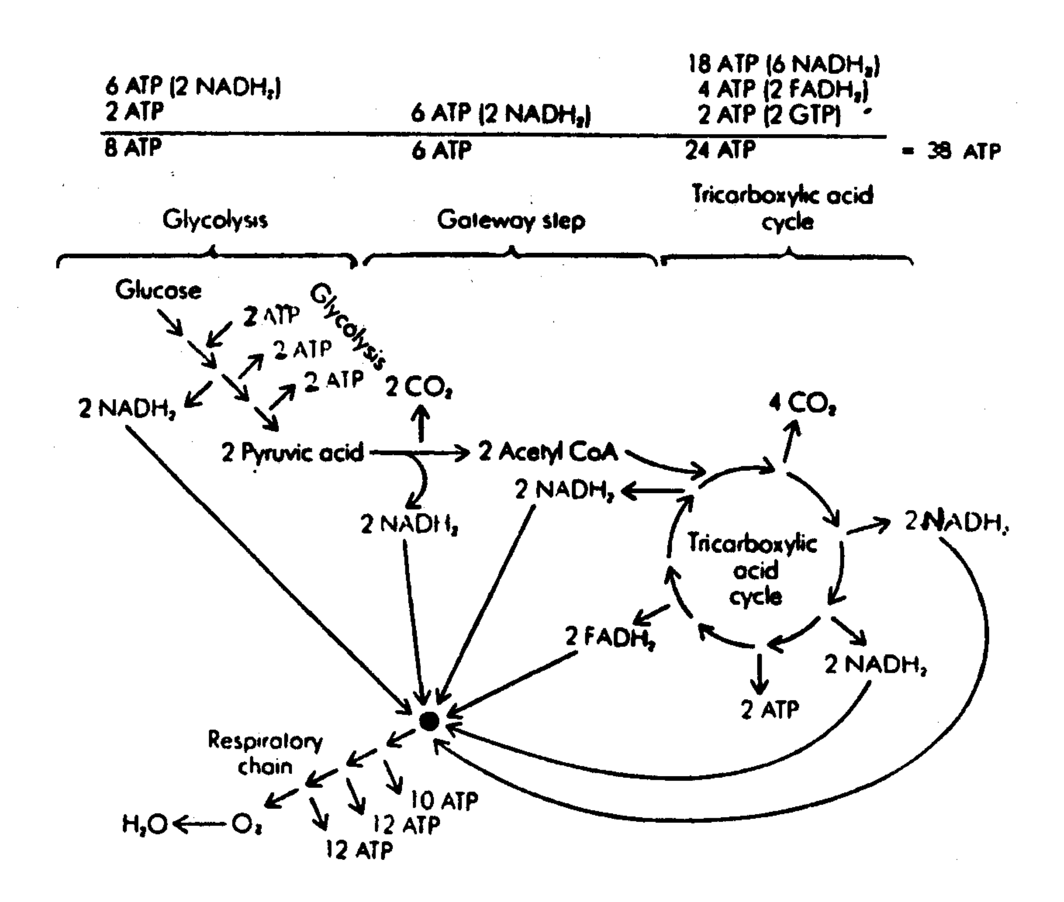
B : قد تنتقل الالكترونات إما من خلال السيتوكرومات الى الأكسجين ، أو تنتقل مباشرة من الأوبيكينون إلى سيتوكروم o ، الى الأكسجين ، كما فى *Paracoccus denitrificans*

C : قد تنتقل الالكترونات الى الأكسجين من خلال سيتوكروم b و o ، أو من خلال سيتوكروم d كما فى حالة *E. coli*

كمية الطاقة المنتجة

لو تتبعنا تفاعلات الأيض الهدمى ، التى يتعرض لها جزىء الجلوكوز بالخلية ، بــدءا من تفاعلات التحلل الجليكولى ، ومرورا بدورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل ، وأخــيرا مــايتم بسلسلة نقل الالكترونات ، لاستطعنا التعرف على مقدار الطاقة التى تحتجزها الخلية فى صــورة ATP ، والتى تنتج عند خطوات معينة .

ويوضح الشكل [١٠ (١) - ٥] مواقع إختزال المرافقــات الانزيميــة ، خــلال دورة التحلل الجليكولى ، ودورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل ، ثم إعــادة أكســدة تلــك المرافقــات الانزيمية المختزلة خلال سلسلة نقل الالكترونات بالخلية ، وذلك عند أكسدة جــزىء الجلوكــوز أكسدة تامة إلى ماء وثانى أكسيد كربون .



شكل ١٠ (١) - ٥ : كمية ATP الكلية الناتجة من هدم واحد مول جلوكوز خلال دورة التنفس الهوائى .

والمعادلة التالية ، تمثل الأكسدة الكاملة للجلوكوز ، خلال دورة التحلــل الجليكولــى ، ودورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل ، والسلسلة التنفسية

$$C_6H_{12}O_6 + 6\,CO_2 \longrightarrow 6\,CO_2 + 6\,H_2O$$

و يمكن من الشكل السابق ، حساب عدد جزيئات ATP الناتجة من مول واحد جلوكوز ، كالآتى

أ – ينتج من دورة التحلل الجليكولى

٦ جزىء ATP : من تحول ٢ $NADH_2$ إلى ٦ ATP بالفسفرة التأكسدية

٢ جزىء ATP : من فسفرة مستوى مادة التفاعل

أى ٨ **جزىء** ATP : من دورة التحلل الجليكولى

ب – وينتج مابين دورة التحلل الجليكولى ودورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل

٦ جزىء ATP :من تحول ٢ جزىء Acetyl CoA الى بيروفيك بالفسفرة التأكسدية ، وذلك عند تحول دورة التحلل الجليكولى الى دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل

جـ – وينتج من دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل

١٨ جزىء ATP من تحول ٦ $NADH_2$ الى ١٨ ATP بالفسفرة التأكسدية

٤ جزىء ATP من تحول ٢ $FADH_2$ الى ٤ ATP بالفسفرة التأكسدية

٢ جزىء ATP من فسفرة مستوى مادة التفاعل

أى ٢٤ جزىء ATP من دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل

ويصبح المجموع الكلى ٨ + ٦ + ٢٤ = ٣٨

أى أن ٣٨ جزىء ATP تنتج من الأكسدة الكاملة لواحد مول جلوكوز

وهذا يعنى أن أكسدة واحد مول جلوكوز بالخلية ، يؤدى إلى حجز جزء من الطاقة المتحررة فى صورة ٣٨ جزىء ATP ، وباستعمال قيمة ٧٣٠٠ كالورى للتعبير عن مقدار الطاقة اللازمة لتخليق ATP ، فإن كمية الطاقة المحتجزة فى صورة ATP بالخلية = ٣٨ × – ٧٣٠٠ = – ٢٧٧٤٠٠ كالورى .

وبمقارنة ذلك بمايحدث عند أكسدة واحد مول جلوكوز أكسدة كاملة ، بواسطة الأكسجين (خارج الخلية) ، الى ماء وثانى أكسيد كربون ، حسب التفاعل

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \longrightarrow 6\,CO_2 + 6\,H_2O \quad \Delta G^\circ = -\,686{,}000 \text{ cal at pH } 7.0$$

فاننا سنلاحظ أن تغير الطاقة الحرة المصاحب لأكسدة الجلوكوز بالخلية الحية ، أقل من كمية الطاقة المحررة من الأكسدة الكاملة للجلوكوز بخارج الخلية ، وتقدر كفاءة الخلية فى حفظها للطاقة ، بقسمة كمية الطاقة المحتجزة بالخلية فى صورة ATP ، على كمية الطاقة المحررة من أكسدة الكاملة للجلوكوز بخارج الخلية ، أى

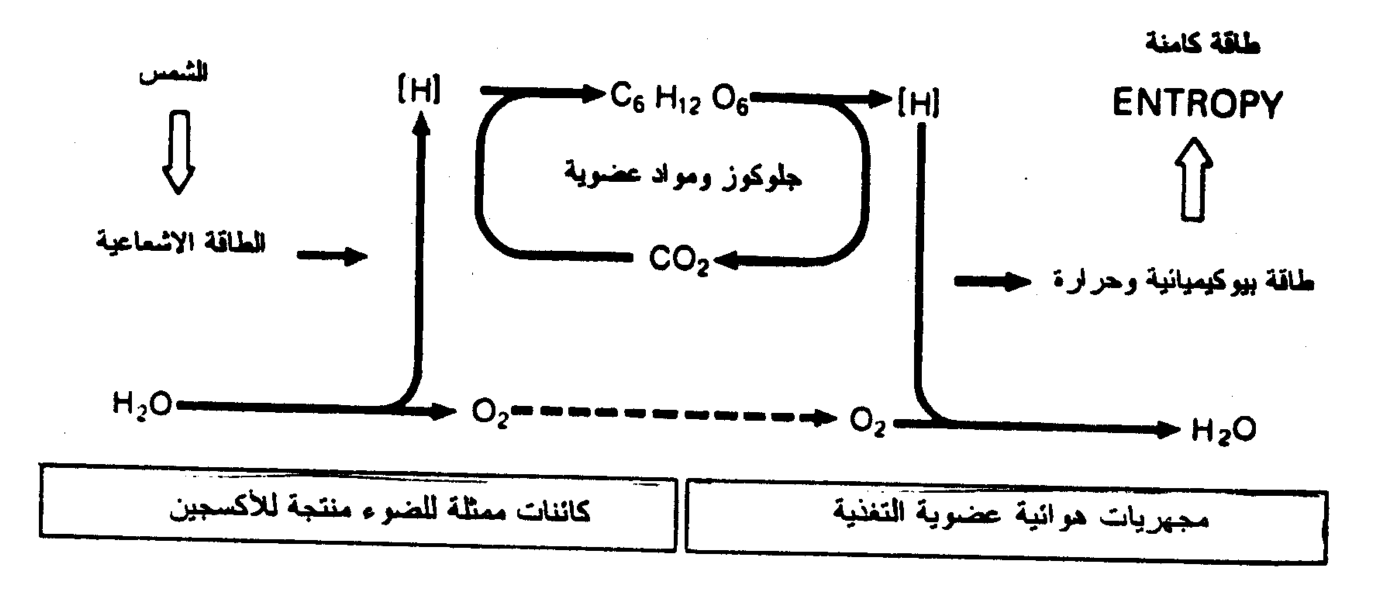
$$\frac{٢٧٧٠٠٠}{٦٨٦٠٠٠} \times ١٠٠ = \sim ٤٠\%$$

وهذه القيمة تعنى أن الخلية استطاعت استخلاص ٤٠% من الطاقة المتاحة فى جزىء الجلوكوز ، واحتفظت بها فى صورة مركبات ذات طاقة عالية ، لكى تستغلها كلما دعت الحاجة إلى استعمالها ، فى أنشطتها ، وفى تفاعلات الأيض البنائى المختلفة .

الأسس العامة فى تحولات الطاقة الحيوية : Basis of bioenergy conversion

هناك عمليتان فى دورة الكربون . وإن كان بينهما تباين ، إلا أنهما مكملتان لبعضهما، الأولى هى عملية التمثيل الضوئى Photosynthesis والمصاحبة لتثبيت CO_2 وانطلاق الأكسجين ، والثانية هى عملية المعدنة Mineralisation والمصاحبة لانطلاق ثانى أكسيد الكربون واستهلاك الأكسجين . وبالنظر الى مايحدث من تحولات بالكتلة الحيوية Transformation of mass ، فإننا نجد أن عمليتى التمثيل الضوئى والمعدنة ، هما عمليتين مكملتين لبعضهما لبعض ، حيث يتحول CO_2 من الصورة الغازية والمعدنية (الناتجة من المعدنة) الى الصورة العضوية (بالتمثيل الضوئى) ، فى صورة مركبات عضوية صلبة أو نصف صلبة .

يتم تحويل الطاقة الضوئية الناتجة من الشمس فى عملية التمثيل الضوئى الى طاقة كيميائية ، وعن طريق تفاعلات الانشطار ، بتحلل الماء الى أكسجين (O_2) وايدروجين (H) ، ثم يتحد الأخير مع الكربون (مصدره CO_2) ، ويتحول الى حالة شبه مستقرة كما هو مبين بالشكل [١٠ (١) - ٦] . ويمثل فرق الجهد بين الايدروجين والاكسجين الناتج بواسطة النباتات ، مصدر الطاقة اللازمة للتنفس الهوائى للميكروبات الممثلة للمواد العضوية ، ويتم إتحاد الأكسجين بالايدروجين الناتج من تمثيل المركبات العضوية ، ويتكون الماء .



شكل ١٠ (١) - ٦ : تحول الطاقة الضوئية الى مواد عضوية وطاقة كيميائية .

ويتضح من الشكل السابق أن نظام النباتات الممثلة للضوء ونظام الميكروبات الممثلة للمواد العضوية ، مكملين لعمليات تحويل الطاقة الاشعاعية الى حرارة ، مما يؤدى الى الإبطاء من زيادة الطاقة الكامنة .

ومن الإعتبارات الأساسية Basic considerations فى تحولات الطاقة الحيوية ، مايلى

١- إحتياج الخلية للطاقة : Cell requirement for energy

تحتاج الخلايا الخضرية إلى الإمداد المستمر من الطاقة ، ليس فقط أثناء النمو ، بل وأيضا فى طور السكون ، وبالتالى فإن الطاقة لازمة للحفاظ على الحياة ، وأيضا لإستمرار تخليق المكونات الخلوية التى تحصل عليها الخلية ، عن طريق الايض الغذائى .

تُكتسب مصادر الطاقة من الوسط الغذائى ، حيث تتحول داخل الخلية عن طريق سلسلة متعاقبة من التفاعلات الانزيمية عبر المسارات الأيضية الى طاقة . وترجع أهمية المسارات الأيضية إلى تجهيز المواد الممهدة Precursors اللازمة لمكونات الخلية ، ولإمداد الخلية أيضاً بالطاقة اللازمة للتخليق والنمو ولغيرها من العمليات الحيوية .

ويمكن وضع تعريف عام للأيض الغذائى Metabolism بأنه نشاط حيوى متشعب الأوجه ولكنه محدد الاهداف ، وتشترك فيه عدة مجاميع من أنظمة متعددة الانزيمات Multienzyme systems ، لتحقيق تبادل المادة والطاقة بين الخلية والبيئة المحيطة بها .

وهناك أربع وظائف متخصصة للأيض هى

١ - استخلاص الطاقة الكيميائية من البيئة المحيطة ، سواء أكان ذلك من المواد الغذائية العضوية ، أو المعدنية أو من ضوء الشمس .

٢ -تحويل المواد الغذائية الى وحدات بناء أساسية أو مركبات أولية ممهدة Precursors ، لتكوين المركبات البيولوجية ذات الأوزان الجزيئية العالية التى تدخل فى تركيب الخلايا .

٣ -ترتيب أو تحويل وحدات البناء الأساسية الى بروتينات وأحماض نووية ولبيدات ، ومكونات أخرى ضرورية لحياة الخلية .

٤ -بناء وتجزئة المركبات البيولوجية المطلوبة للقيام بوظائف خاصة فى الخلايا .

وبصفة عامة ، تمتاز المسارات الايضية Metabolic pathways فى الكائنات الحية المختلفة ، بتشابه تفاعلاتها ، وخاصة مايعرف بالمسارات الايضية الاساسية ، وذلك على الرغم من وجود مئات من التفاعلات الانزيمية المختلفة فى هذه المسارات .

٢ - مرونة الكائنات الحية الدقيقة فى احتياجاتها الغذائية

Flexibility of microorganisms for growth requirements

تمتاز الكائنات الحية الدقيقة بإمتلاكها مرونة أيضية كبيرة ، تتمكن بواسطتها من التأقلم مع الظروف الغذائية ، من ناحية النوع والكم المتاحين فى البيئة ، وذلك ضمن حدود التصنيف الأيضى الأساسى للكائن الحى .

على سبيل المثال ، فإن بكتريا *E. coli* تصنف ضمن مجموعة الميكروبات عضوية التغذية كيميائية الطاقة Chemoorganotrophs ، وعلى الرغم من ذلك ، فانها تبدى تبايناً أيضيا كبيراً فى احتياجاتها وفى مدى تأقلمها ، فهى تستطيع استعمال الجلوكوز وسكريات أخرى ، كمصدر للكربون ، وذلك إضافة الى مواد أخرى مثل الجلسرول ، والأحماض الأمينية ، والكحول الايثيلى والخلات .

وترجــع هذه المرونة الى قدرة بكتريا الكولاى فى تحويل جميع هــذه المركبــات الوســطية فى خليتها ، الى مركبات قابلة للدخول فى المسارات الأيضية الاساسية , كما تتمكن هذه البكتريـا من استخدام مركبات أخرى ، فضلاً عن الأمونيا ، كمصادر نتروجينية مثل الأحماض الأمينيــة وقواعد البيورين وقواعد البريميدين والكولين ، وغيرها من المركبات النتروجينية .

ومن الملاحظ أن خلايا *E. coli* تنمو بسرعة ملحوظة ، عند استبدال الأمونيا بخليــط متكامل من الأحماض الأمينية وقواعد البيورين والبريميدين الضروريــة لتخليــق البروتينــات والأحماض النووية ، وترجع الزيادة فى سرعة النمو ، الى أن وجود هذه المركبات فى وســط النمو ، يوفر على الخلية مهمة تخليقها من الأمونيا ، عنــد وجــود الأخــيرة كمصــدر وحيــد للنتروجين .

إن توفر الأحماض الأمينية فى وسط النمو ، يجعل الخلايــا تتوقــف عــن اســتعمال الأمونيا ، حيث تُعد هذه الأحماض بمثابة اشارة إيقـــاف ، أى كبــح Repression ، للجينــات المسئولة عن تخليق الانزيمات اللازمة لتحفيز التفاعلات الخاصة بتخليق الأحماض الأمينية مــن الأمونيا ، أى أن وجود الأحماض الأمينية ، يوفر الجهد الأيضى والطاقة المستغلة فــى تخليــق تلك الانزيمات التى أصبحت عديمة الفائدة فى وجود تلك الأحماض ، أمــا عنــد عــدم وجــود الأحماض الأمينية فى بيئة النمو ، أو عند وجودها بتركيزات أقل من الحد الأدنى ، فإن عمليــة الكبح الواقعة على هذه الجينات تزول ، ويتم تخليق الانزيمات الضرورية لتخليـــق الأحمــاض الأمينية من الامونيا مرة ثانية .

٣ - الأيض الهدمى Catabolism والايض البنائى Anabolism

إن الايض الهدمى Catabolism والايض البنائى Anabolism ، يشـــكلان القســمين اللذين يتألف منهما الايض الغذائى Metabolism .

فالايض الهدمى هو عملية تجزئة لجزيئات المكونات الغذائية الكبيرة (كربوهيــدرات ، لبيدات ، بروتينات) ، بفعل الانزيمات ، وبتفاعلات تكون معظمها تفاعلات أكسدة Oxidative ، الى مجموعة من الجزيئات الصغيرة أبسط تركيباً (مثل حامض اللاكتيك أو حامض الخليــك أو ك أ ٢ أو الأمونيا أو اليوريا) ، وتحصل الخلية على المكونات الغذائية الكبيرة المذكــورة ، إمــا من البيئة المحيطة ، أو من أجزاء الخلية التى تقوم بخزن هذه الجزيئات .

ويصاحب الايض الهدمى تحرر مقدار من الطاقة الحرة ، التى كانت مخزونــة فــى الــتركيب المعقد للمكونات الغذائية الكبيرة ، حيث أن الطاقة تتحرر بفعل تجزئة وأكسدة هــذه الجزيئــات الغذائية الكبيرة ، ومن ثم تخزن تلك الطاقة المحررة على صورة روابط فوسفاتية غنيه بالطاقــة، فى مركبات معينة مثل ثلاثى فوسفات الادينوزين (ATP) .

أما الايض البنائى فيشمل مجموعة تفاعلات تخليق انزيمية ، للجزيئات الكبــيرة التــى تدخل فى تكوين الخلية (كالمواد عديدة السكريات ، البروتينات ، اللبيدات والأحماض النوويــة) ، وذلك من جزيئات المواد الأولية الممهدة Precursors .

وتمثل كثير من المركبات العضوية ذات الوزن الجزيئى الصغير ، مثـــل الأحمــاض الأمينية والأحماض العضوية والبيورين والبريميدين ، وغيرها من المواد الايضية ، الوحـــدات البنائية Building blocks اللازمة للتخليق الحيوى للجزيئات الكبيرة ، وتتطلب تفاعلات الايـض البنائى مقداراً من الطاقة الحرة ، وذلك لانخفاض الطاقة الكامنة Entropy الناجمة عـــن زيـادة حجم الجزيئات الناتجة عن تفاعلات التخليق .

ويكون إمداد الطاقة الحرة المطلوبة لهذه التفاعلات فى صورة ATP ، وبذلـك تسـير عمليات الايض الهدمى والبنائى بصورة متزامنة (أى فى وقت واحد) فى الخلية ، ويعتمـد كـل منهما على الآخر .

ويشمل الايض الغذائى الوسطى Intermediary metabolism سلاسل من التفاعلات الانزيمية ، التى يتم فيها تخليق أو تجزئة جزيئات أحد المركبات الحيوية ، وتسمى المركبات الوسطية فـى هذا النوع من التفاعلات بالمواد الايضية Metabolites (أنظر ص ٧٥٤) .

ويتم تبادل الطاقة بين المواد المانحة للطاقة وتلك المستقبلة لها ، فى تفاعلات تسمى بتفـاعلات ازدواج الطاقة Energy coupling reactions ، وهى تفاعلات كيميائية يربـط بينـها وسـيط مشترك ، يقوم بنقل الطاقة من مركب مانح للطاقة إلى مركب آخر مستقبل للطاقـة ، فـازدواج الطاقة يؤدى الى حدوث تغير بمستوى الطاقة المصاحبة لتفاعلات الأيـض الغذائـى ، ويعتمـد مقدار هذا التغير على نوع التفاعل .

ويتم حفظ جزء من الطاقة المنطلقة من بعض التفاعلات عند خطوات ومراحـل مـن الايـض الهدمى ، على صورة روابط فوسفاتية غنية بالطاقة ، تستعمل عند مراحل معينة مـن الايـض البنائى ، وذلك عندما تدعو الحاجة إلى طاقة لسير التفاعلات .

ولذلك يجب معرفة العاملين الآتيين عند دراسة المسارات الايضية

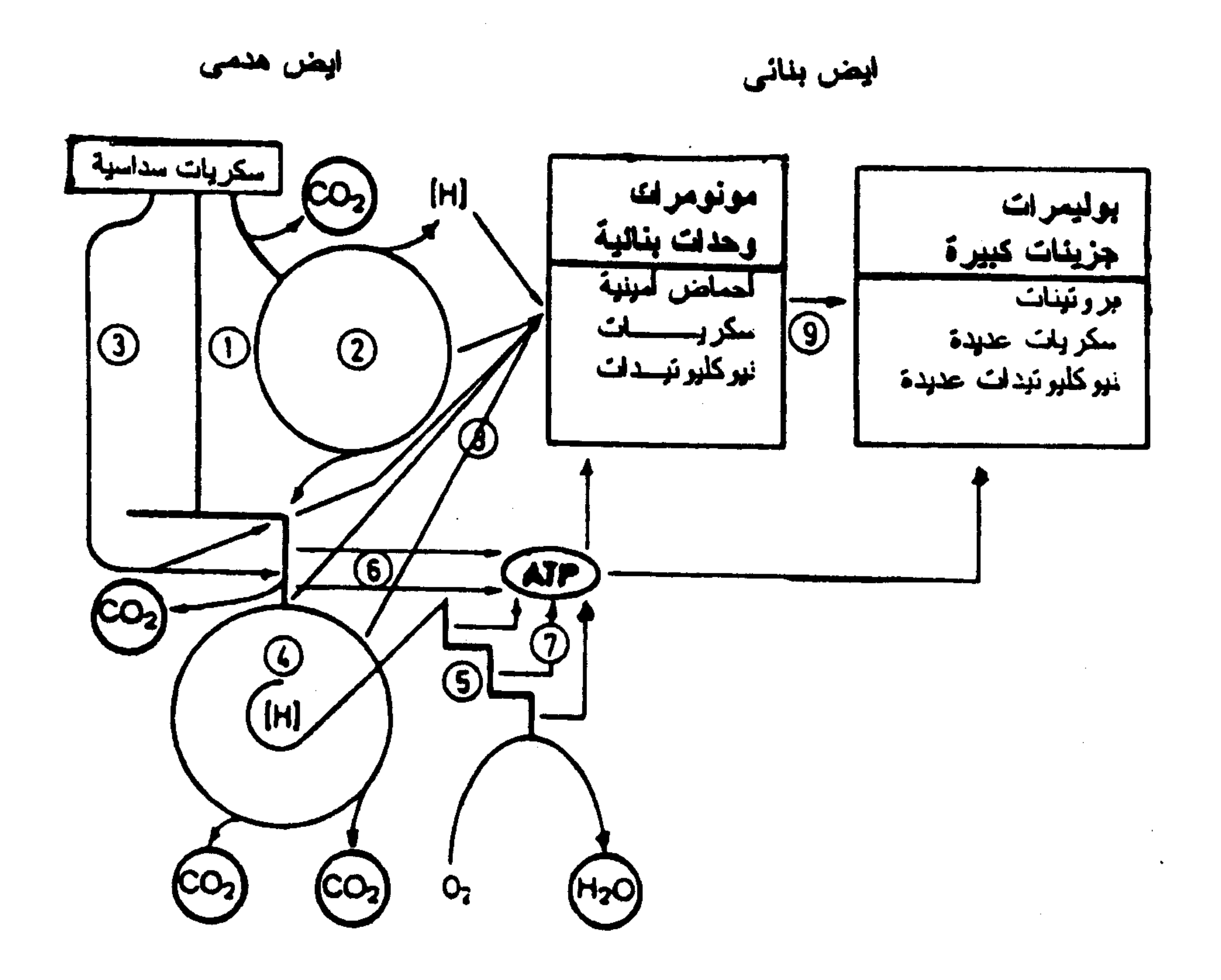
١ – التفاعلات التى يحدث فيها تغير للروابط التساهمية Covalent bonds للمركـب الأولـى ، التى تؤدى لتكوين النواتج .

٢ – التغيرات وتبادلات الطاقة الكيميائية المصاحبة لتلك التحولات الأيضية .

ويوضح الشكل [١٠ (١) – ٧] خريطة ايضية لهدم السكريات السداسية * .

---

* راجع تجزئة الكربوهيدرات ، بالفصل الثانى من هذا الباب .



① : دورة فركتوز -١ ، ٦- داى فوسفات

② : دورة البنتوز - فوسفات (فوسفات البنتوز)

③ : دورة ٢ كيتو- ٣- ديوكسى - ٦- فوسفوجلوكونات

④ : دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل

⑤ : السلسلة التنفسية

⑥ : فسفرة مادة التفاعل

⑦ : فسفرة السلسلة التنفسية (فسفرة تأكسدية)

⑧ : تخليق المونومرات

⑨ : تخليق البوليمرات

شكل ١٠ (١) - ٧ : الخريطة الايضية لهدم السكريات السداسية بواسطة خلايا هوائية التنفس .

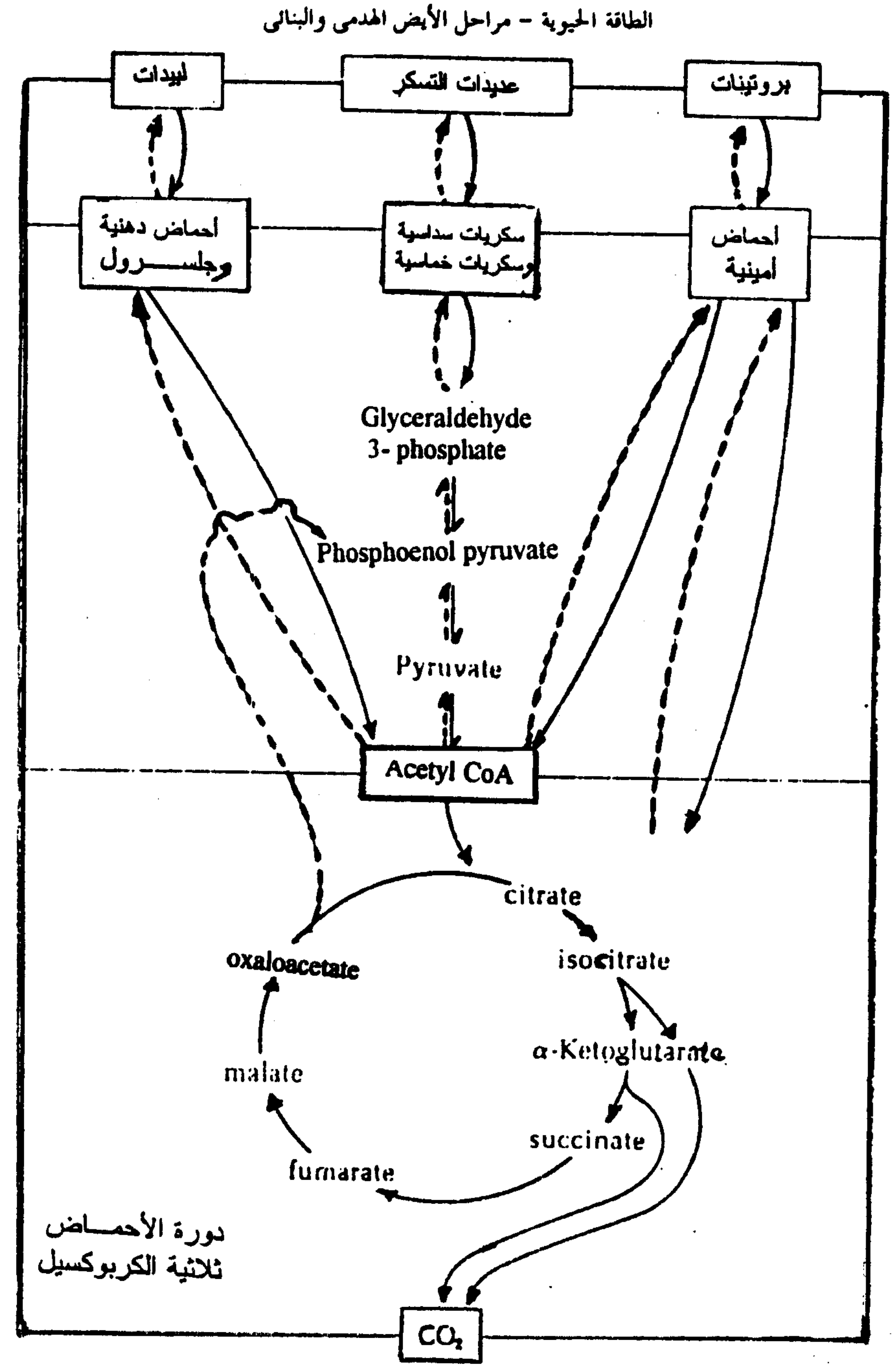
٤ - العلاقة بين مسارات الايض الهدمى والايض البنائى والايض الإزدواجى

أ - **يتم الايض الهدمى** للمكونات الغذائية ذات الوزن الجزئى الكبير (كربوهيدرات ولبيدات ، وبروتينات) ، عبر سلسلة من التفاعلات الانزيمية ، فى المراحل الأساسية الثلاثة التالية [كما هو موضح فى الشكل [١٠ (١) - ٨] .

المرحلة الأولى : يجرى فى هذه المرحلة تجزئة جزيئات المواد الغذائية الكبيرة الى وحدات تركيبية أساسية ، فالمواد عديدة السكريات تتجزأ لتعطى السكريات الخماسية أو السداسية الداخلة فى تركيب تلك المواد ، كما ينتج عند تجزئة البروتينات الأحماض الأمينية التى تدخل فى تركيب تلك البروتينات ، وينتج من تجزئة اللبيدات الأحماض الدهنية والجلسرول وبعض الوحدات التركيبية الأخرى .

المرحلة الثانية : يتم فى هذه المرحلة تجميع نواتج تفاعلات المرحلة الأولى لتحويلها الى مركبات أبسط ، حيث تتحول السكريات الخماسية والسداسية أو الجلسرول ، الى مركب ثلاثى مفسفر هو Glyceraldehyde -3- phosphate ، ومن ثم يتحول الى صورة ثنائية الكربون فى مجموعة Acetyl CoA ، وهى أيضا الصورة التى تكون عليها نواتج تجزئة الأحماض الدهنية ، أما بالنسبة للأحماض الأمينية الناتجة عن تجزئة البروتينات ، فإنها تتحول الى عدد من المركبات مثل Acetyl CoA ،α-ketoglutarate ، Succinate ، Fumarate ، Oxaloacetate.

المرحلة الثالثة : تعتبر هذه المرحلة بمثابة المرحلة النهائية المشتركة لجميع نواتج المرحلتين الأولى والثانية ، حيث يتم أكسدة تلك النواتج لتعطى ثانى أكسيد الكربون والماء .



شكل ١٠ (١) - ٨ : مراحل الايض الهدمى والايض البنائى

تمثل الأسهم غير المتقطعة مسارات الايض الهدمى ، وتمثل الاسهم المتقطعة مسارات الايض البنائى .

ب – **أما الأيض البنائي** ، فانه يتم أيضاً فى ثلاث مراحل ، بدءاً من وحـــدات البنـــاء الصغيرة الناتجة من المرحلة الثالثة من الأيض الهدمى ، حيث تعتـــبر الأحمـــاض مـــن نـــوع α-keto acid ، مصادر أولية لتخليق الأحماض الأمينية من النوع ألفا ، وهذه بدورهـــا تشـــكل الوحدات الأساسية فى تخليق البروتينات .

وهذا يعنى ، أن المرحلة الثالثة من الايض الهدمى ، تكون مشتركة بين الايض الـــهدمى وبيـــن الايض البنائى بالرغم من إختلاف طبيعة تفاعلاتها ، ولذلك تسمى بمرحلة الأيض الازدواجى أو تسمى أحياناً بمرحلة المسار ذو الإتجاهين Amphibolic pathway ، حيث يمكـــن أن تســـتغل مسارات هذه المرحلة من قبل الخلية فى الايض الهدمى ، وذلك بتكسير وأكسدة نواتج المرحلـــة الثانية ، أو تستغل فى الايض البنائى ، وذلك بإمداد نواتج المرحلة الثانية بجزيئـــات المركبـــات الممهدة Precursors الضرورية لمرحلة البناء .

أما ترابط تفاعلات الايض مع بعضها ، فانه ينتج عن كون ناتج التفاعل لانزيم معين ، هو مـــادة التفاعل للإنزيم الذى يليه فى سلسلة دورة التفاعلات الانزيمية .

وأخيراً ، فإن معظم تفاعلات الايض الوسطى ، تتضمن تفاعلات متعاقبة ، يتم خلالـــها إنتقال مجاميع الكربوكسيل ، الفوسفات ، الميثـــايل ، الفورمـــايل ، مجـــاميع الأمينـــو أو ذرات الايدروجين ، بين مركبات الأيض Metabolic compounds المختلفة .

٥ - دورة الطاقة فى الخلايا

إن من الحقائق الثابتة إمتلاك الجزيئات العضوية المعقدة ، مقدارا كبيرا نسبيا من الطاقة الكامنة ، نتيجة ارتفاع رتبة أو درجة النظام البنائى Structural order . وعلى سبيل المثال ، فانه عند أكسدة جزىء جلوكوز بواسطة الأكسجين الجزيئى ، فإنه يعطى ستة جزيئات CO_2 ، وستة جزيئات H_2O ، وتزداد الطاقة الكامنة Entropy للذرات ، وذلك لإنفصالها عن بعضها البعض ، مما يكسبها القدرة على إحتلال مواقع مختلفة بالنسبة لعلاقتها ببعضها . وبسبب هذه الأكسدة ، فإن جزىء الجلوكوز يفقد مقدارا من الطاقة الحرة ، والتى هى طاقة قابلة للإستغلال فى إنجاز عمل تحت درجة حرارة وضغط ثابتين .

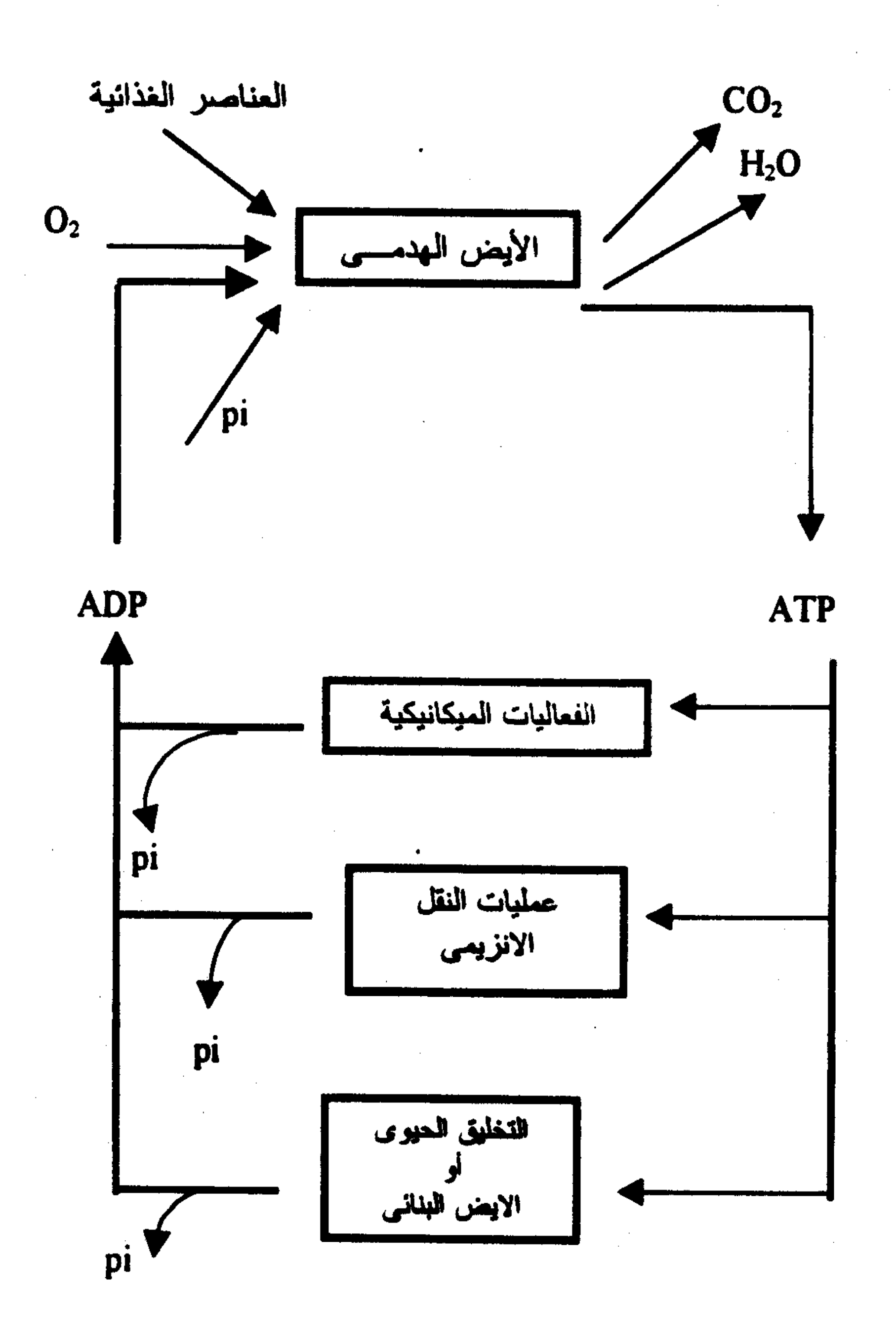
وإنطلاقاً من هذا الأساس ، تقوم الخلية بحجز واستغلال الطاقة المتحررة من الجلوكوز لإنجاز عمل تحتاج اليه ، حيث أن تفاعلات الأكسدة البيولوجية ، ماهى إلا عمليات إحتراق تجرى على درجة حرارة منخفضة . ولكون الكائنات الحية تعيش على درجة حرارة ثابتة نسبيا ، فانه من غير الممكن الاستفادة من الحرارة كمصدر للطاقة ، لاسيما وأن إنجاز شغل بواسطة الحرارة تحت ضغط ثابت ، يتطلب سريان الحرارة من جسم ساخن الى جسم بارد .
ويتم حفظ الطاقة الحرة فى صورة طاقة كيميائية ، وتحقق الخلية هذا الحفظ للطاقة باستغلال تفاعلات الأكسدة والاختزال التى تحدث فى مسارات الايض الهدمى .

ويتم ذلك بطريقتين هما

أ - حفظ الطاقة الحرة فى صورة رابطة الفوسفات الغنية بالطاقة فى ثلاثى فوسفات الادينوزين (ATP) ، حيث يخلق هذا المركب من ثنائى فوسفات الادينوزين (ADP) والفوسفات غير العضوى ، وذلك عن طريق نقل مجموعة الفوسفات إنزيميا فى تفاعلات تسير بصورة ازدواجية Coupled ، مع خطوات وتفاعلات الأكسدة فى مسارات الايض الهدمى .

ومركب ATP قادر على الانتشار والوصول الى أجزاء الخلية التى تحتاج الى الطاقة ، وبذلك تستطيع الخلية الاستفادة من الطاقة الكيميائية لهذا المركب الغنى بالطاقة ، من خلال إنتقال مجموعة أو مجموعات الفوسفات الطرفية الى جزيئات أخرى ، بحيث تصبح الأخيرة ذات طاقة كافية لإنجاز عمل .

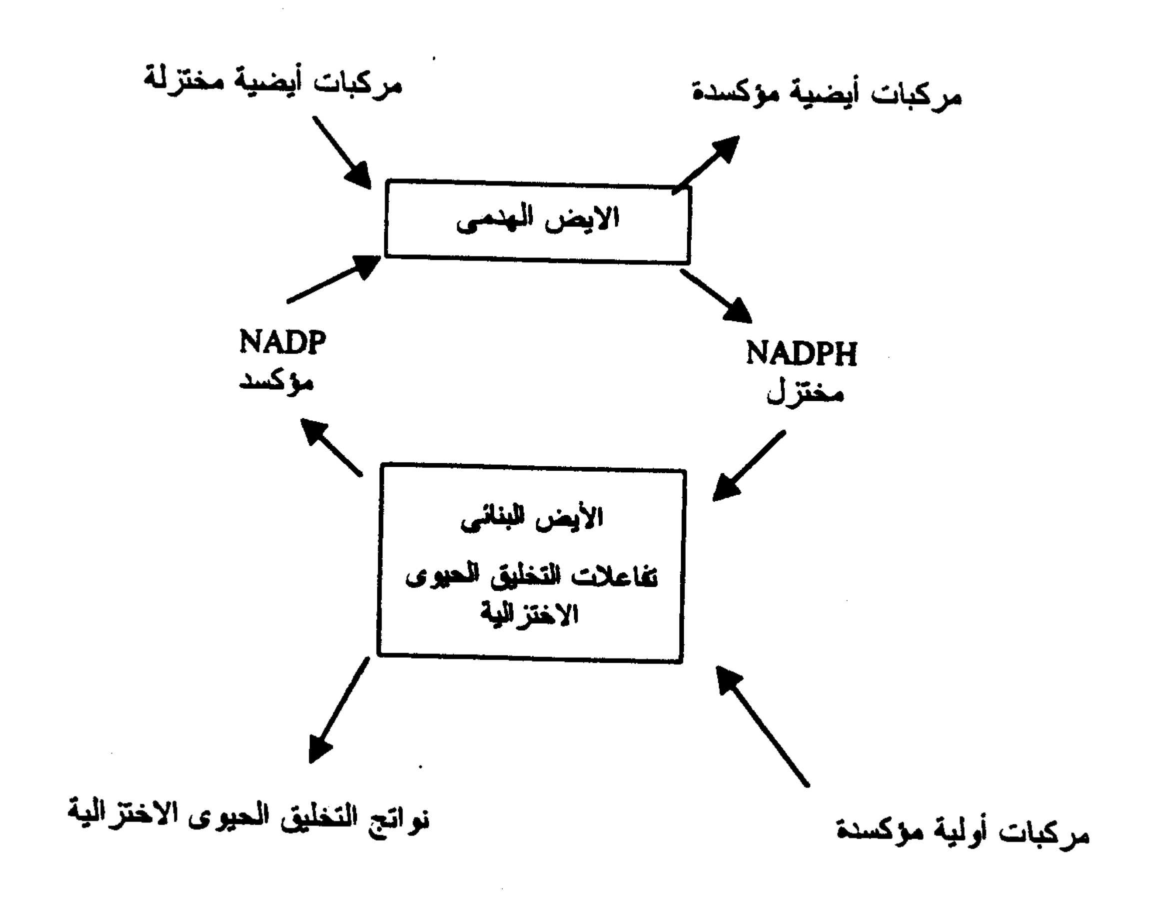
ويوضح الشكل [١٠ (١) - ٩] الخطوط العامة لتحولات الطاقة وتغيراتها لكـــل مـــن ATP ، ADP .



شكل ١٠ (١) - ٩ : دورة ATP , ADP فى الخلية ،
Pi - فوسفات غير عضوى .

ب - نقل الطاقة الناتجة من تفاعلات الأكسدة والاختزال فى الأيض الهدمى ، الى تفاعلات الايض البنائى أو التخليق الحيوى التى تحتاج اليها على صورة الكترونات ، كما يحدث عند تخليق المركبات الحيوية ذات المحتوى العالى من الايدروجين ، وخاصة الأحماض الدهنية والكولسترول ، حيث يتم نقل الالكترونات فى الخلية بواسطة الانزيمات ، وذلك من تفاعلات الأكسدة المنتجة للإلكترونات فى الايض الهدمى ، الى المجاميع والمركبات التى تحتاج الى الإلكترونات فى الأيض البنائى .

وتشترك فى تفاعلات نقل الالكترونات المرافقات الانزيمية الناقلة لها وفى مقدمتها NADP ، حيث يقوم NADP بنقل الالكترونات الغنية بالطاقة الآتية من تفاعلات الأيض الهدمى ، الى تفاعلات الايض البنائى التى تحتاج الى هذه الالكترونات ، كما هو موضح فى شكل [١٠ (١) - ١٠] .



شكل ١٠ (١) - ١٠ : دور NADP فى نقل القوة الاختزالية (الالكترونات) فى الخلية

٦ – السيطرة الخلوية على المسارات الأيضية *

قبل إستعراض الأساليب الرئيسية لسيطرة الخلية على المسارات الايضية ، فإنه ينبغى التأكيد على أن المبدأ الذى تسير عليه جميع المسارات الأيضية الخلوية ، يعتمد بدرجة كبيرة على الاقتصاد فى استهلاك الطاقة ، حيث أن سرعة الايض الهدمى فى الخلية ، تتحدد بمدى احتياجات الخلية من الطاقة (فى صورة ATP) ، وليس بتركيز العناصر الغذائية الموجودة فى البيئة المحيطة بها .

وفى المقابل ، فان سرعة التخليق الحيوى (أى الايض البنائى) تتحدد بمدى الحاجة لمكونات الخلية ، إذ أن سرعة تخليق الأحماض الأمينية مثلاً ، تكون متناسبة مع تزويد الخلية بالحد الأدنى والضرورى من وحدات البناء الأساسية ، التى تدخل فى تخليق البروتينات .

وبصفة عامة ، فإنه يتم تنظيم المسارات الايضية فى الخلية بعدة أساليب ، وعلى عدة مستويات .

ويمكن تصنيف تلك النظم التنظيمية ضمن الأنواع العامة التالية

١ – **النوع الأول** ويعد من أبسط أنواع التنظيم ، حيث تعتمد السرعة الفعلية الكلية للمسار الأيضى فى الخلية ، على تركيز الانزيمات الداخلة فى التفاعل ، والأس الايدروجينى (pH) وثابت ميكائيلس Michaelis constant ، والميل Affinity تجاه المرافقات الإنزيمية وأيونات الفلزات المنشطة ، والتى تعد صفاتاً مميزة لكل إنزيم موجود ضمن نظام متعدد الإنزيمات .

٢– **النوع الثانى** من التنظيم والسيطرة ، يتم بواسطة الانزيمات المنظمة Relgulatory enzymes ، التى توجد عادة عند بداية أو قرب تفاعلات المسار الايضى المتعدد الانزيمات . وتكون أغلب الانزيمات المنظمة حساسة للتثبيط بواسطة المنتج النهائى من تفاعلات المسار الأيضى ، ويسمى هذا النوع من التنظيم ، بالتثبيط بواسطة المنتج النهائى End Product Inhibition ، أو بتثبيط التغذية الراجعة (المرتدة) Feed-back Inhibition ، أو بالتثبيط الإرتجاعى Retroinhibition .

وعلى سبيل المثال ، يعمل ATP كمثبط الوستيرى Allosteric فى الأنظمة الانزيمية ، التى يتم بواسطتها تخليقه من ADP وذلك بصورة ازدواجية مع تفاعلات الايض الهدمى ، وكذلك الحال فى المسارات الأيضية التى يجرى فيها تخليق المركبات الحيوية ، إذ أن المركب الناتج هو الذى يعمل كمثبط الوستيرى .

ومن الملاحظ ، أن بعض الانزيمات الالوستيرية تستجيب لتنشيط أو لتثبيط إثنين أو أكثر من المنشطات أو المثبطات ، التى قد تكون ناتجة عن اثنين أو أكثر من سلاسل التفاعلات الايضية المختلفة . وتسمى تلك الإنزيمات بالانزيمات الالوستيرية متعددة التكافؤ Multivalent Allosteric Enzymes ، وبإمكان هذه الانزيمات تنظيم سرعة مسارين أو أكثر من المسارات الايضية .

---

* راجع الانزيمات وتنظيم الأيض الغذائى ، بالباب التاسع ، الفصل الأول والثانى .

٢- النوع الثالث - يتم وراثيا ، إذ تعد السيطرة الوراثية على سرعة تخليق الانزيم ، أحد الأساليب التى تتبعها الخلية فى التنظيم الايضى ، وذلك لاعتماد سرعة المسار الايضى على تركيز الصورة الفعالة لكل إنزيم من الانزيمات الداخلة فى المسار ، وتعتمد التركيزات الفعالة لهذه الإنزيمات ، على مقدار الإتزان بين تخليقها وهدمها ، وفى هذا الخصوص ، فإنه يمكن تمييز نوعين أساسيين من الإنزيمات* .

أ) الانزيمات البنائية Constitutive Enzymes وهذه الانزيمات تكون موجودة دائما فى الخلية وبتركيزات ثابتة تقريباً .

ب) الانزيمات المستحثة أو المتلائمة ، Induced or Adaptive Enzymes ، وهذه الانزيمات لاتكون موجودة دائما فى الخلية ، بل يتم تخليقها إستجابة الى وجود مواد تفاعل معينة مُحِثّة ، حيث تكون الجينات المسيطرة على تخليق هذه الإنزيمات فى حالة كبح Repression، وعند وجود عامل محث Inducing Agent ، فإنه يتم تنشيط تلك الجينات أو إزالة تأثير الكبح Derepress ، استجابة لوجود العامل المحث .

---

* أنظر إنزيمات بنائية وإنزيمات مستحثة ص ٦٤٩ ومايليها .

(الباب العاشر - الفصل الثانى)
إنتاج الطاقة - تجزئة الكربوهيدرات

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة

«الباب العاشر - الفصل الثانى»

إنتاج الطاقة ، تجزئة الكربوهيـــدرات
Energy production - Carbohydrate Breakdown

تستطيع كثير من البكتريا خليطة التغذية ، استخدام مصادر عضوية متعددة كمصـــادر للحصول على الطاقة . وتتضمن هذه المصادر الكربوهيدرات ، الأحماض العضوية ، الأحماض الدهنية والأحماض الأمينية ، غير أن المركبات المفضلة لدى أغلب أنواع البكتريا خليطة التغذية هى الكربوهيدرات ، خاصة المركب ذو الستة ذرات كربون ، الجلوكوز ، وسوف نركز فيمـــا يلى على تجزئة هكسوز الجلوكوز ، كمادة غذائية كربوهيدراتية أساسية للأيض الغذائى بالخلية.

تجزئة الهكسوزات

تنشق الهكسوزات عادة الى جزيئين (٢ حامض بيروفيك) ، ويعتـــبر هـــذا الحـــامض مفتاحاً للمركبات الايضية الوسطية ، حيث يعمل كنقطة نهاية لتفاعلات هدمية وكنقطـــة بدايـــة لتفاعلات بنائيه .

يتم نزع CO_2 من حامض البيروفيك ، ثم يتحد المركـــب النـــاتج Acetyl CoA مـــع Oxaloacetate ، ويدخل فى دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل TCA cycle (دورة حـــامض الستريك) ، حيث يتم أكسدة السكر الى CO_2 ، عبر سلسلة من التفاعلات الانزيمية ، كما تدخـــل ذرات الايدروجين H التى تنتج من تفاعلات نزع الايدروجين ، فى نظـــام السلســـلة التنفســـية Respiratory chain system ، وتؤدى الى توليد ATP ، وهـــو مايســـمى بعمليـــة الأكســـدة الفوسفورية Oxidative phosphorylation .
وحصيلة دورة واحدة فى دورة TCA هو ٢ جزىء CO_2 و ٤ جزىء H_2 ، وهى حصيلة كافيـــة لحفظ إتزان دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل .

وتتضمن المركبات الوسطية فى دورة TCA تكون بعض الأحماض العضوية ، وهـــذه الأحماض (مثل 2-Oxoglutarate, Succinate, oxaloacetate) . تعتبر كمادة إستبداء لعمليـــات التخليق الحيوى ، وفى حالة السحب المستمر لهذه المركبات ، فإن ذلك يؤدى الى تعثر أو الـــى توقف الدورة ، نتيجة لعدم إعادة تخليق الجزىء المستقبل Acceptor molecule ، ويمكن تلافى حدوث ذلك عن طريق التفاعلات التعويضيـــة (Anaplerotic reactions ، Replenishing) ، والتى تدعم دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل بمركبات وسطية إضافية ، لتعويض الفقد النـــاتج عن عمليات التخليق الحيوى .

وتشكل المسارات التعويضية أهمية ، خاصة بالنسبة للميكروبات التى تنمو على مركبـــات كربونية بسيطة ، تتراوح ذرات الكربون فيها من ذرة واحدة الى ثلاثة ذرات ($C_1 - C_3$) .

مسارات تجزئة الهكسوز : Pathways of hexose breakdown

هناك عدة طرق لتحويل الجلوكوز ذو الستة ذرات كربون الى مركب ذو ثـــلاث ذرات من الكربون ، ويمثل البيروفيك أحد أهم المركبات الوسطية للأيـــض الغذائـــى . ومـــن أوســـع مسارات الـــهدم إنتشـــاراً ، هـــى التـــى تتـــم عـــبر دورة فركتـــوز-١ ، ٦- داى فوســـفات Fructose-1,6- disphosphate (FDP) ، وتعـــرف هـــذه الدورة أيضـــا باســـم دورة التحلل

الجليكولى ، Glycolysis, Glycolytic Breakdown * أو دورة امبدن – مايرهوف – بارناس ** Embden-Meyerhof-Parnas ، كما أن هناك مسارا آخرا تسلكه معظم الكائنات الحية الدقيقة ، يسمى بمسار فوسفات البنتوز Pentose-phosphae pathway ، وقد يسمى بمسار Hexose monophosphate ، أو مسار Warburg – Dickens – Horecker ** pathway .

وترجع أهمية التفاعلات فى دورة فوسفات البنتوز ، إلى أنها تعيد تكوين مستقبلات Regenerates CO_2 فى الميكروبات الأوتوتروفية المثبتة لثانى أكسيد الكربون .

كما أن من مسارات تجزئة الجلوكوز ، مايعرف بدورة أنتنر-دودوروف ** Entner-Doudoroff ، وقد تسمى مختصرة باسم ED pathway ، وتتميز هذه الدورة بوجود المركب الوسطى 2-keto-3-deoxy-6-phosphogluconate .

وبصفة عامة ، فإن فسفرة الجلوكوز فى الخلايا ، يتم عند ذرة الكربون رقم ٦ بواسطة إنزيم Hexokinase فى وجود ATP كمانح لمجموعة الفوسفات ، ويعتبر الجلوكوز -٦- فوسفات ، صورة أيضية نشطة Metabolically active form للجلوكوز الخلوى ، كما يعتبر أيضا نقطة بداية للثلاث طرق الخاصة بمسارات الأيض الهدمى للكربوهيدرات ، السابق الإشارة إليها .

دورة فركتوز -١ ، ٦- داى فوسفات (دورة التحلل الجليكولى)

Fructose -1,6-diphosphate pathway (glycolysis)

يتحول جلوكوز-٦-فوسفات فى هذا المسار [شكل ١٠ (٢) – ١ أ] الى فركتوز -٦- فوسفات بواسطة إنزيم جلوكوز فوسفات أيسوميريز ، ثم يتم فسفرة الفركتوز عند ذرة الكربون الأولى فى وجود إنزيم 6-phosphofructokinase ، ويتكون فركتوز -١ ، ٦- داى فوسفات ، الذى يتعرض لتفاعل إنشطارى ، بانزيم الألدوليز Aldolase ، وينتج داى هيدروكسى اسيتون فوسفات وجلسرالدهيد – ٣ – فوسفات ، ويستمر هذان المركبان فى حالة إتزان بواسطة إنزيم Triosephosphate isomerase .

كما يمكن أن يتم إختزال مركب داى هيدروكسى اسيتون فوسفات الى جلسرول وفوسفات بواسطة إنزيم جليسرول فوسفات ديهيدروجينيز ، ثم بالتحلل المائى فى وجود إنزيم جليسرول – ١- فوسفاتيز ، يتحول مركب الجليسرول فوسفات إلى جليسرول وأورثوفوسفات .

وتحت الظروف الطبيعية للدورة ، يتحول مركب داى هيدروكسى اسيتون فوسفات بانزيم الألدوليز ، إلى جلسرالدهيد – ٣- فوسفات ، الذى يعاد أكسدته بنزع الايدروجين منه ، وهى خطوة تعتبر من أهم خطوات الحصول على الطاقة فى دورة التحلل الجليكولى ، وينتج من الأكسدة ٣- فوسفوجلسريك .

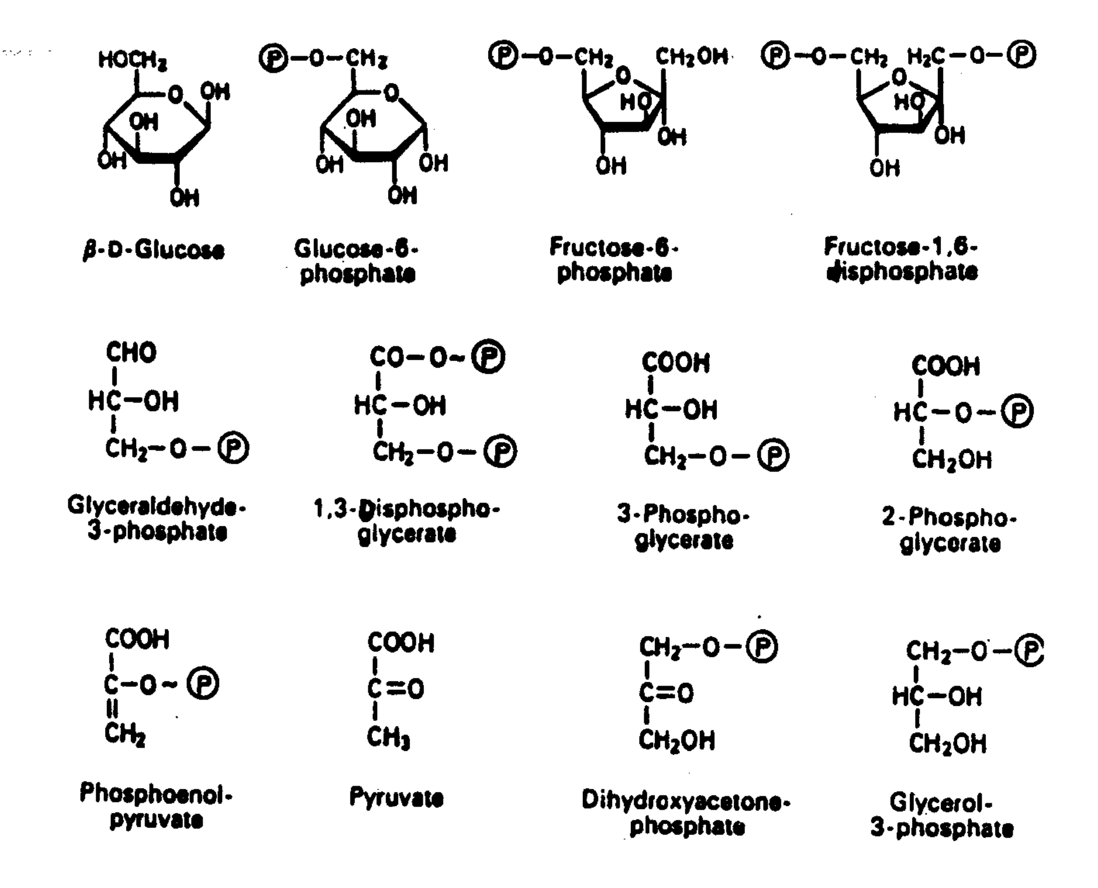
---

* glycolysis : التحلل الجليكولى (وأنظر تذييل ص ٧٨٢)

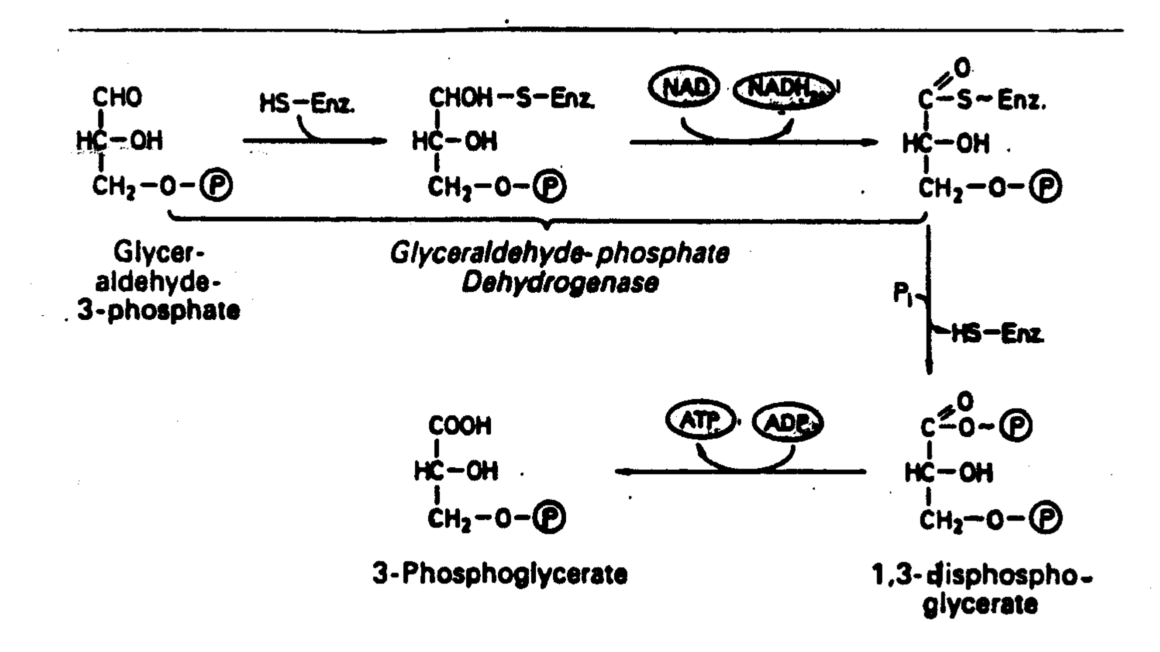
يعنى هذا المصطلح فى أبسط معانيه ، تحلل السكريات الناتجة من الجليكوجين .

ويستخدم هذا المصطلح حالياً ، للدلالة على مجموعة التفاعلات التى تتم خلال تحلل السكريات بدورة امبدن – مايرهوف – بارناس

** أسماء البحاث الأساسيين الذين ساهموا فى إيضاح الدورات المعنية .



شكل ١٠ (٢) – ١ أ : تحول الجلوكوز الى حامض بيروفيك بدورة فركتوز – ١ ، ٦– داى فوسفات .



Ⓟ : PO_3^-

شكل ١٠ (٢) – ١ ب : تحول جلسرالدهيد – ٣ – فوسفات الى ١ ، ٣ – داى فوسفوجلسريك فى دورة فركتوز – ١ ، ٦– داى فوسفات .

فعند تحول جلسرالدهيد - ٣- فوسفات الى ١ ، ٣ - داى فوسفوجلسريك ، بانزيم Glyceraldehyde phosphate dehydrogenase ، وبمشاركة مجموعة HS [شكل ١٠ (٢) ، ١ ب] ، فان الـ NAD يتحول إلى $NADH_2$ ، وبعد ذلك يتحول ١ ، ٣- داى فوسفوجلسريك بانزيم Phosphoglyceric kinase الى ٣- فوسفوجلسريك ، مع تكون رابطة غنية بالطاقة فى صورة ATP . وتعتبر هذه الفسفرة الناتجة ، فسفرة عند مستوى مادة التفاعل Substrate-level phosphorylation .

وتعتمد أكسدة جلسرالدهيد ٣-فوسفات إلى ٣-فوسفوجلسريك على البروتين الانزيمى وعلى وجود كل من ADP والارثوفوسفات ، وجدير بالذكر أن نقص أو إستهلاك هذه المواد يؤدى الى قرب إنتهاء دورة التحلل الجليكولى Termination of glycolysis ، وهى حقيقة هامة تؤدى الى تنظيم هدم الجلوكوز بواسطة مايعرف بتأثير باستير * Pasteur effect .

يتحول بعد ذلك ٣-فوسفوجلسريك الى ٢-فوسفوجلسريك عن طريق انزيم Phosphoglyceromutase ، وبالتحليل المائى وفى وجود Enolase ، ينتج فوسفواينول بيروفيك وهنا تتكون رابطة اينول إستر الغنية فى الطاقة ، وتنتقل الى ADPالذى يتحول الى ATP عبر انزيم Pyruvate kinase ، وينتج البيروفيك الذى يعتبر مادة ممهدة Precursor للعديد من تفاعلات البناء والهدم والتحولات الوسطية .

وجدير بالذكر أن تفاعلات مسار فركتوز -١ ، ٦- فوسفات تعتبر كلها تفاعلات عكسية ، ماعدا ثلاثة منها ، وهى تفاعل كل من الإنزيمات التالية

Hexokinase , 6-Phosphofructokinase and Pyruvate kinase

ومحصلة إنتاج هذه الدورة ، هو ٢ جزىء بيروفيك و ٢ جزىء ATP و ٢ جزىء $NADH_2$ ، ويأخذ التفاعل العام لهذه الدورة الشكل الآتى

$$C_6H_{12}O_6 + 2\,NAD + 2\,ADP + 2\,Pi \longrightarrow \underset{\text{حامض بيروفيك}}{2CH_3\,COCOOH} + 2NADH_2 + 2ATP$$

يعتبر جزيئى ATP المنطلقين من تحويل جلسرالدهيد ٣-فوسفات الى بيروفيك ، من أهم مصادر الطاقة للميكروبات اللاهوائية ، وتعتمد كل الكائنات الحية الدقيقة التى تخمر المواد الكربوهيدراتية ، باستثناء مجموعة ضئيلة من الميكروبات ، على الطاقة الناتجة من أكسدة الجلسرالدهيد - ٣- فوسفات الى بيروفيك .

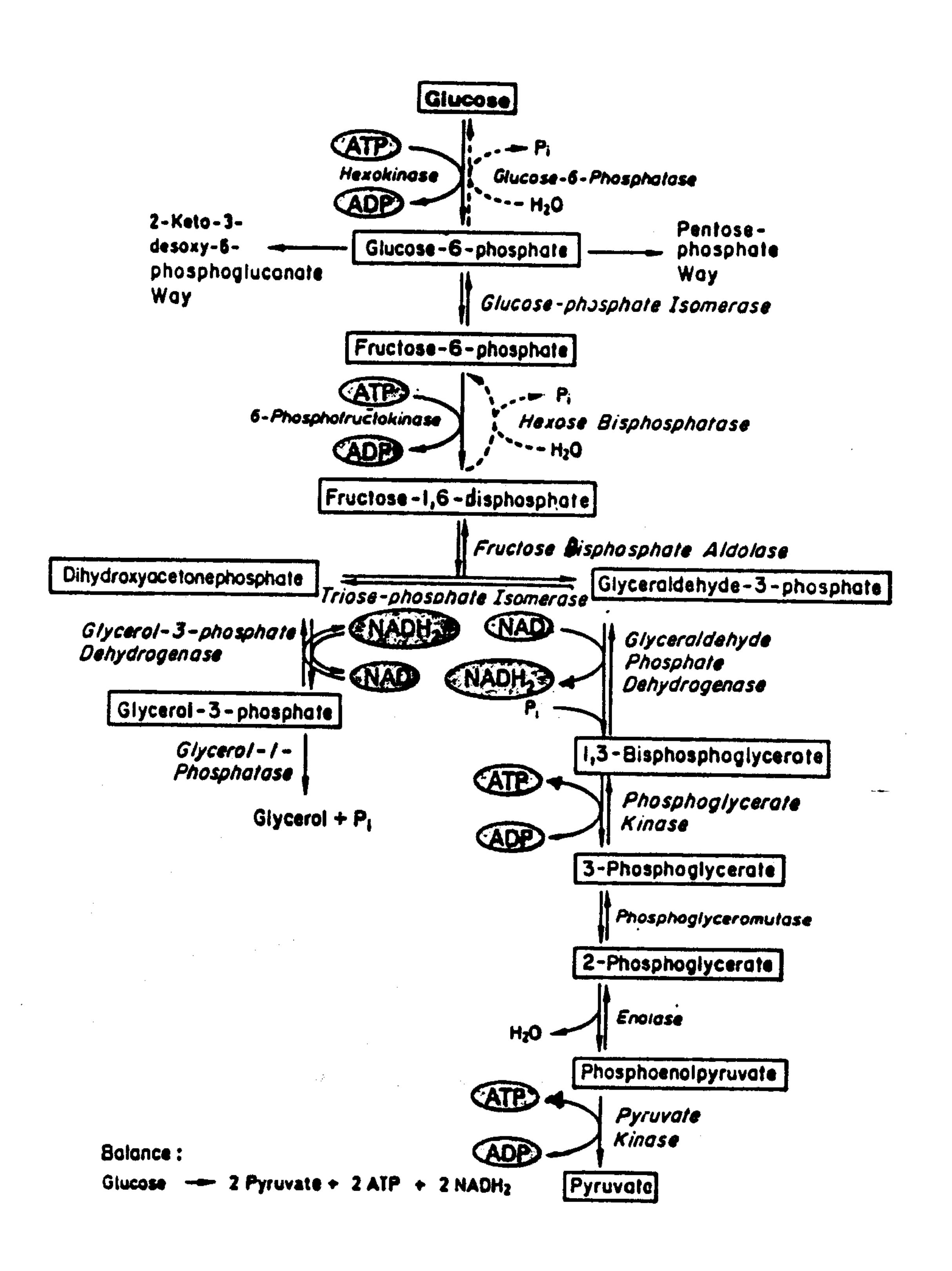
والشكل [١٠ (٢) - ٢] يوضح مسار دورة فركتوز - ١ ، ٦- داى فوسفات .

---

* تأثير باستير : Pasteur effect (وأنظر ص ٨٦٨)

لاحظ باستير منذ أكثر من مائة عام ، عند إنتاجه للنبيذ من تخمير السكريات بواسطة الخميرة ، أنه أثناء التخمر ، فأن الخميرة تستطيع تحت الظروف الموالية أن تنتج كتلة خلوية تزيد عشرة مرات ، عما تستطيع أن تنتجه من نفس كمية السكر تحت الظروف اللاهوائية ، بما يعنى بأن التخمر ، أو التحلل الجليكولى ، يحدث له تثبيط أو يتوقف تحت الظروف الهوائية .

تعرف هذه الملاحظة الآن باسم تأثير باستير ، وأصبحت تؤخذ كنموذج للتنظيم فى عمليات الأيض الذى تقوم به المجهريات الاختيارية للهواء .



شكل ١٠ (٢) - ٢ : دورة فركتوز -١و٦- داى فوسفات (دورة التحلل الجليكولى للجلوكوز) .

دورة فوسفات البنتوز (بنتوز الفوسفات) : The pentose-phosphate pathway

وتعرف هذه الدورة أيضا باسم دورة الهكسوز أحادى الفوسفات Hexose monophosphate أو بدورة Warburg-Dickens- Horecker pathway ، وفى هذه الدورة يتم نزع الايدروجين من جلوكوز- ٦- فوسفات فى مسار فوسفات البنتوز [شكل ١٠ (٢) - ٣] بواسطة انزيم Glucose-6-phosphate dehydrogenase ويتكون ٦- فوسفوجلوكونولاكتون ، مع تحويل الايدروجين لـ NADP ليكون $NADPH_2$ ، وبالتحليل المائى لمركب ٦- فوسفوجلوكونولاكتون الذى يتم ذاتيا أو بفعل انزيم Gluconolactonase ، ينتج ٦-فوسفوجلوكونات ، ويتم إختزال الاخير بانزيم 6-Phosphogluconate dehydrogenase ، مع حدوث نزع لمجموعة ثانى أكسيد الكربون ، وبذلك ينتج Ribulose 5-phosphate ، ويمثل ذلك نهاية عملية الأكسدة الحقيقية بهذه الدورة .

أما بالنسبة للتفاعلات التالية بالدورة ، فإنها مجرد تحولات بينية Interconversion للبنتوز- فوسفات الى الجلوكوز - فوسفات ، والعكس بالعكس . وبإضافة هذه التفاعلات الى تفاعلات الأكسدة السابقة تنتج دورة أيضية Yields a metabolic cycle .

ومن الشكل [١٠ (٢) - ٣] نجد أن هناك حالة إتزان بين ريبيولوز - ٥ - فوسفات Ribulose-5-phosphate وكل من رايبوز -٥- فوسفات Ribose-5-phosphate ، وزايليلوز- ٥ - فوسفات Xylulose-5- phosphate . ويعتبر الرايبوز-٥- فوسفات ، هو حجر البناء ، اللازم لتخليق الأحماض النووية والنيوكليوتيدات .

كما يمكن فى هذه الدورة تحويل بنتوزات الفوسفات الى ٢ جزىء فركتوز-٦-فوسفات وجزىء جلسرالدهيد - ٣ - فوسفات ، وذلك بواسطة انزيمات Transketolase (TK) و Transaldolase (TA) .

وعقب تحول فركتوز ٦- فوسفات الى المشابه له ، جلوكوز -٦- فوسفات ، وتكثيف جزيئين ترايوز فوسفات Triose phosphate لتكوين هكسوز فوسفات ، تقفل الدورة Closes the cycle .

وحصيلة دورة واحدة فى هذا المسار بدءا من ٣ جزيئات من جلوكوز -٦- فوسفات ، هو انتاج ٢ جزىء فركتوز - ٦ - فوسفات ، وجزىء جلسرالدهيد-٣- فوسفات ، و ٣ جزىء ثانى أكسيد الكربون ، و٣ مرات $2NADPH_2$.

ويأخذ التفاعل العام لدورة فوسفات البنتوز الشكل الآتى

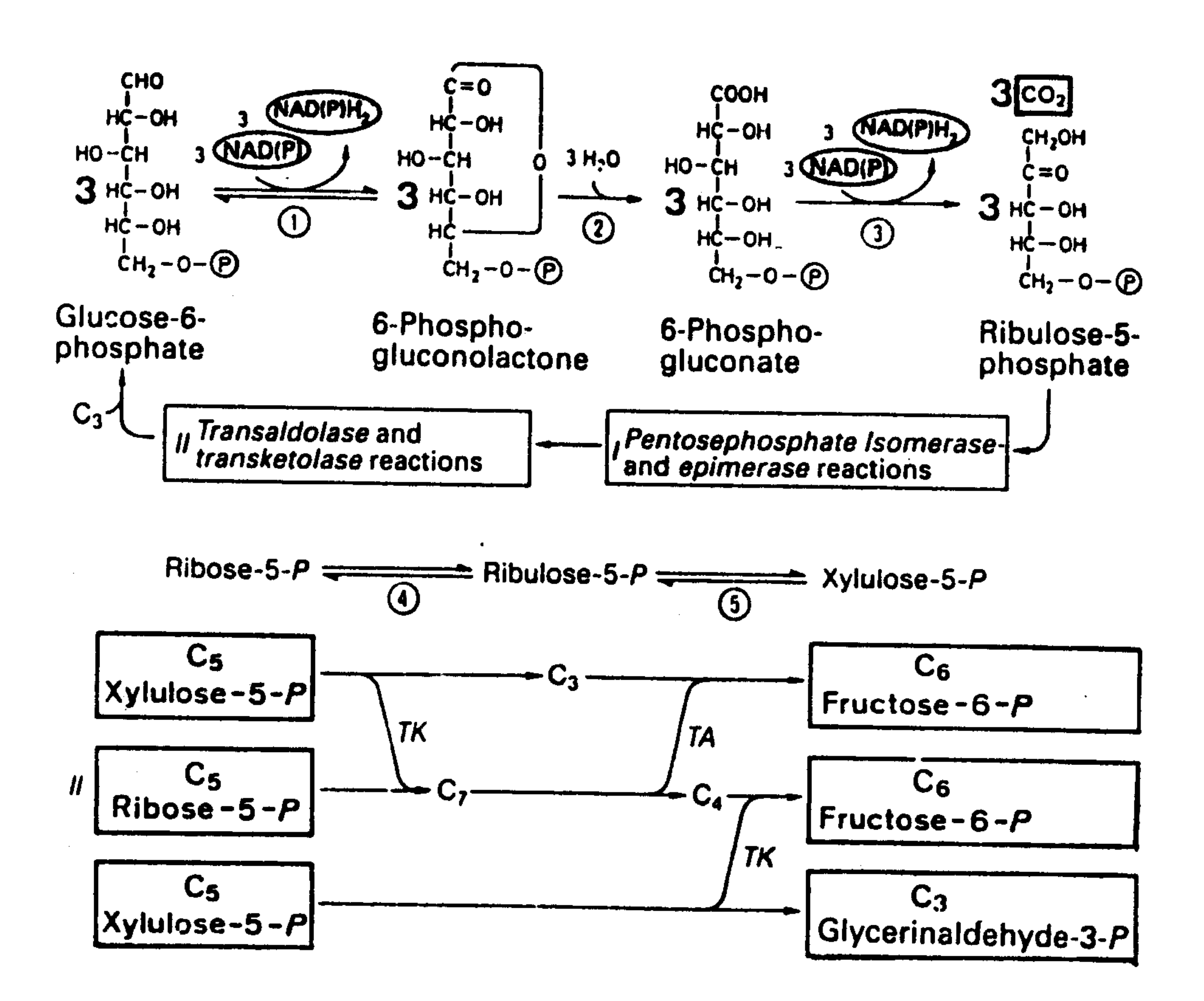
$$6\text{- Glucose-6-phosphate} + 12\ NADP^+ \rightarrow 5\text{- Glucose-6- phosphate} + 6\ CO_2 + 12\ NADPH + 12\ H^+ + Pi$$

أى أن محصلة التفاعل هى

$$\text{Glucose-6-phosphate} + 12\ NADP^+ \longrightarrow 6\ CO_2 + 12\ NADPH + 12\ H^+ + Pi$$

وتعتبر دورة فوسفات البنتوز ، مسارا مساعدا Subsidiary ، حيث ترجع أهميتها الى توفير الممهدات Precursors الضرورية مثل (Pentose phosphates, Erythrose phosphate, Glyceraldehyde-3-phosphate) ، وكذلك القوة الإختزالية اللازمة للعمليات التخليقية بالخلية .

كما أن دورة فوسفات البنتوز توفر المواد الممهدة لتخليق النيوكليوتيدات والأحماض النووية وذلك بنزع الايدروجين و ك أ٢ من جلوكوز -٦-فوسفات ، أو بتأثير إنزيمات ترانزالدوليز وترانزكيتوليز على مادة فركتوز -٦- فوسفات .



شكل ١٠ (٢) - ٣ : دورة فوسفات البنتوز للهدم التأكسدى للجلوكوز - ٦- فوسفات .

الانزيمات المشاركة

1. Glucose-6-phosphate dehydrogenase
2. Lactonase
3. 6-Phosphogluconate dehydrogenase
4. Phosphoribose isomerase
5. Ribulose-5-phosphate-3-epimerase

TK : Transketolase

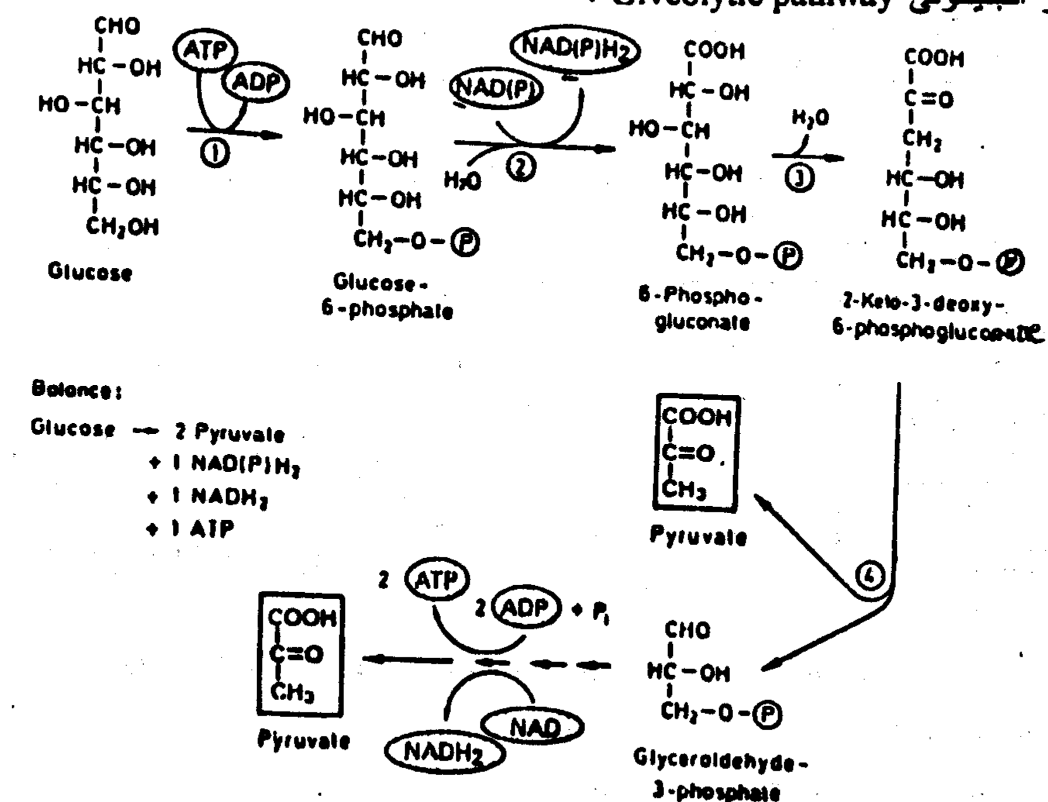
TA : Transaldolase

دورة ٢-كيتو-٣- ديوكسى -٦- فوسفو جلوكونات (دورة أنتنر-دودوروف)

2-Keto-3-deoxy-6-phosphogluconate pathway (KDPG)

وتعرف هـــذه الـدورة أيضـا باسـم دورة انتـنر- دودوروف (ED-pathway) Entner & Doudoroff pathway . وفى هذه الدورة يتم إختزال جلوكوز-٦- فوسـفات الـى ٦-فوسفوجلوكونات ، كما يحدث فى مسـار فوسـفات البنتـوز ، ويتـم نـزع المـاء مـن ٦- فوسـفوجلوكونات بمسـاعدة إنزيـم Phosphogluconate dehydrase ويتـم تكويـن ٢- كيتو - ٣ - ديوكسى - ٦- فوسـفوجلوكونات 2-Keto-3-deoxy-6-phosphogluconate [شكل ١٠ (٢) - ٤] .

ويتعرض المركب الناتج الى تفاعل الانشطار فى وجـود انزيـم Aldolase ، وينتـج البيروفات وجلسرالدهيد ٣ - ، فوسفات ، الذى يمكنه أيضا أن يتأكسد الى بيروفات من خـلال المسار الجليكولى Glvcolytic pathway .



شكل ١٠ (٢) - ٤ : دورة انتنر- دودوروف للهدم التأكسدى للجلوكوز .

الانزيمات المشاركة

1. Hexokinase
2. Glucose-6-phosphate dehydrogenase
3. Phosphogluconate dehydrase
4. Phospho-2-keto-3-deoxy gluconate aldolase

من استعراض الثلاث دورات السابقة ، نجد أن مسارات التجزئة المختلفة للجلوكوز ، تعطى كمياتا مختلفة من $NADPH_2$ و $NADH_2$ و ATP ، حيث ينتج من مسار الفركتوز -١ ، ٦- داى فوسفات ، عدد ٢ مول ATP ، ٢ مول $NADH_2$ لكل مول جلوكوز يتحول الى بيروفات . بينما ينتج من مركب ٢-كيتو-٣- ديوكسى - ٦- فوسفوجلوكونات ، عدد ١ مول ATP و ١ مول $NADPH_2$.

ومن حيث كمية الطاقة المتكونة ، فإن ١ مول $NADPH_2$ يبدو مكافئا فى كمية طاقته الى واحد مول ATP بالإضافة الى ١ مول $NADH_2$. وهذا يؤيد استهلاك ١ مول ATP أثناء تحول الايدروجين من $NADH_2$ الى $NADPH_2$ فى وجود إنزيم Transhydrogenase .

وتختلف الكائنات الحية الدقيقة فى درجة إستخدامها للمسارات الايضية السابقة [أنظر جدول ١٠ (٢) - ١] ، حيث يسود مسار فركتوز- ١ ، ٦- داى فوسفات فى العديد من البكتريا . بينما يعتبر مسار فوسفات البنتوز ذو أهمية عامة Universal .

أما مسار ٢-كيتو-٣-ديوكسى -٦- فوسفوجلوكونات ، فتسلكه البكتريا التى تعتمد على تمثيل الجلوكونات ، وعلى سبيل المثال فإن بكتريا *E. coli* وأنواع من جنس *Clostridium* يمكنها تمثيل الجلوكوز عبر مسار فركتوز-١ ، ٦- داى فوسفات ، كما يمكن لهذه البكتريا أيضا استخدام الجلوكونات فى الايض الغذائى الوسطى ، خلال مسار ٢-كيتو - ٣- ديوكسى - ٦-فوسفوجلوكونات .

جدول ١٠ (٢) - ١ : النسبة المئوية التى تساهم بها الدورات المختلفة فى هدم الجلوكوز* .

نوع الكائن الدقيق	النسبة المئوية لمساهمة دورة		
	فركتوز -١ ، ٦- داى فوسفات	فوسفات البنتوز	٢-كيتو-٣- ديوكسى - ٦- فوسفوجلوكونات
Candida utilis	٧٠ -٨٠	٢٠ -٣٠	
Streptomyces griseus	٩٧	٣	
Penicillium chrysogenum	٧٧	٢٣	
Escherichia coli	٧٢	٢٨	
Bacillus subtilis	٧٤	٢٦	
Pseudomonas aeruginosa		٢٩	٧١
Gluconobacter oxydans		١٠٠	
Pseudomonas saccharophila			١٠٠
Alcaligenes eutrophus			١٠٠

***Ref.:** Schlegel, 1995

Oxidation of pyruvate : أكسدة البيروفات

تحتل البيروفات مركز المركب الوسطى فى دورات الأيض الغذائى ، حيث يمكن أن تتحول الى منتجات عديدة ، ويتم أكسدة البيروفات الناتجة من تفاعلات الهدم بواسطة العديد من البكتريا الى Acetyl CoA، ويوجد فى البكتريا ثلاث طرق شائعة لأكسدة البيروفات ، هى كما يلى

(1) Pyruvate + CoA + NAD → Acetyl-CoA + $NADH_2$ + CO_2

(2) Pyruvate + CoA + 2 Fd → Acetyl-CoA + 2FdH + CO_2

(3) Pyruvate + CoA ⟶ Acetyl CoA + formate

يتم التفاعل رقم (1) بمساعدة معقد انزيمى متعدد multienzyme complex ، وهو مايعرف بمعقد Pyruvate dehydrogenase complex ، مع مشاركة بعض العوامل المتممة للانزيم Cofactors .

ويوجد هذا المعقد الانزيمى فى جميع الميكروبات الهوائية، ولايوجد فى البكتريا اللاهوائية حتما،

ويتكون هذا المعقد الانزيمى من بروتين لثلاث إنزيمات ، هى

(E_1) Pyruvate dehydrogenase

(E_2) Dihydrolipoamide transacetylase

(E_3) Dihydrolipoamide dehydrogenase

ويقوم المعقد الانزيمى بتحويل البيروفات الى أسيتيل كو أ Acetyl CoA ، لكى يدخل فى دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل ، كما سيوضح ذلك فيما بعد .

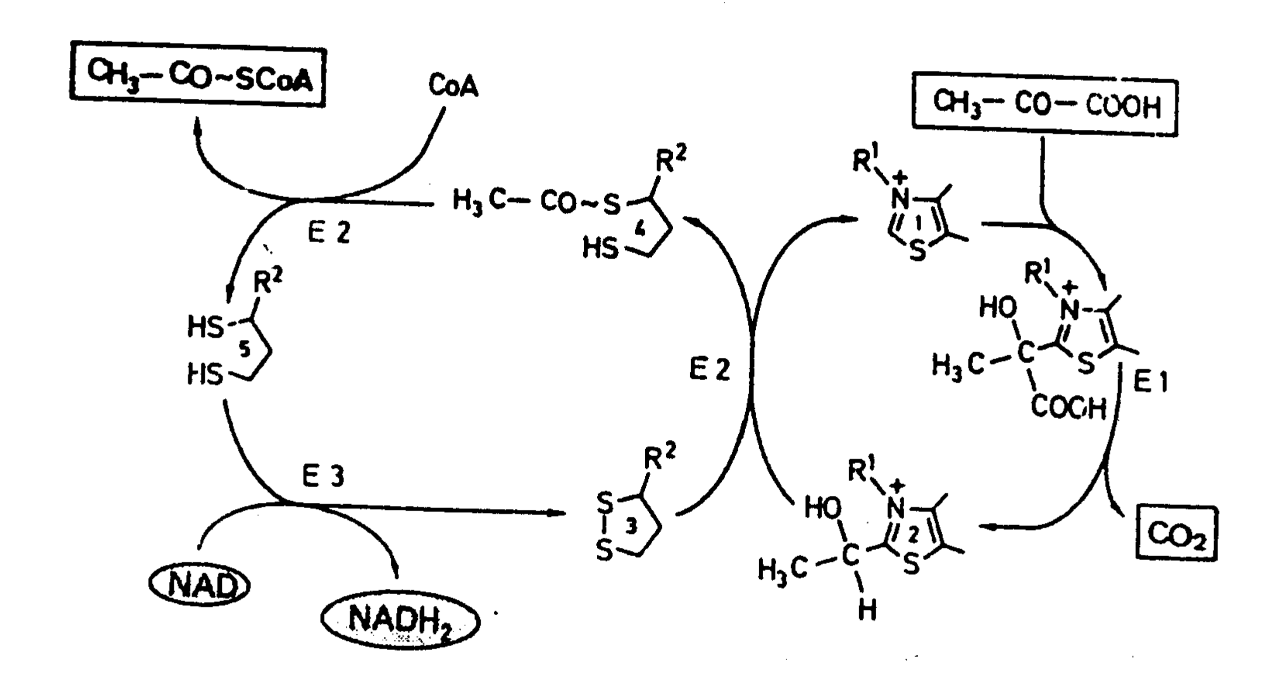
أما التفاعل رقم (2) فيتم بمساعدة المعقد الانزيمى Pyruvate : ferrodoxin oxidoreductase ، ويلعب هذا المعقد دورا بارزا فى العديد من البكتريا اللاهوائية مثل الكلوستريديا .

ويتم التفاعل رقم (3) بمساعدة المعقد الانزيمى Pyruvate : formate lyase ، وهو يوجد فى العديد من البكتريا اللاهوائية التى تنتج الفورمات Formate ، خاصة البكتريا التابعة لفصيلة الانتيروباكتريسيا Enterobacteriaceae ، والبكتريا الممثلة للضوء .

وبالإضافة إلى تلك الطرق الثلاث السابقة ، الشائعة فى أكسدة البيروفات ، فإن بعض البكتريا والخمائر تقوم بافراز إنزيم Pyruvate decarboxylase ، الذى يقوم بأكسدة البيروفات الى اسيتالدهيد مع نزع CO_2 ، حسب المعادلة **Pyruvate ⟶ Acetaldehyde + CO_2** ،

ويختزل الاسيتالدهيد بعد ذلك الى إيثانول .

ويوضح [شكل ١٠ (٢) - ٥] خطوات نزع الايدروجين من البيروفات

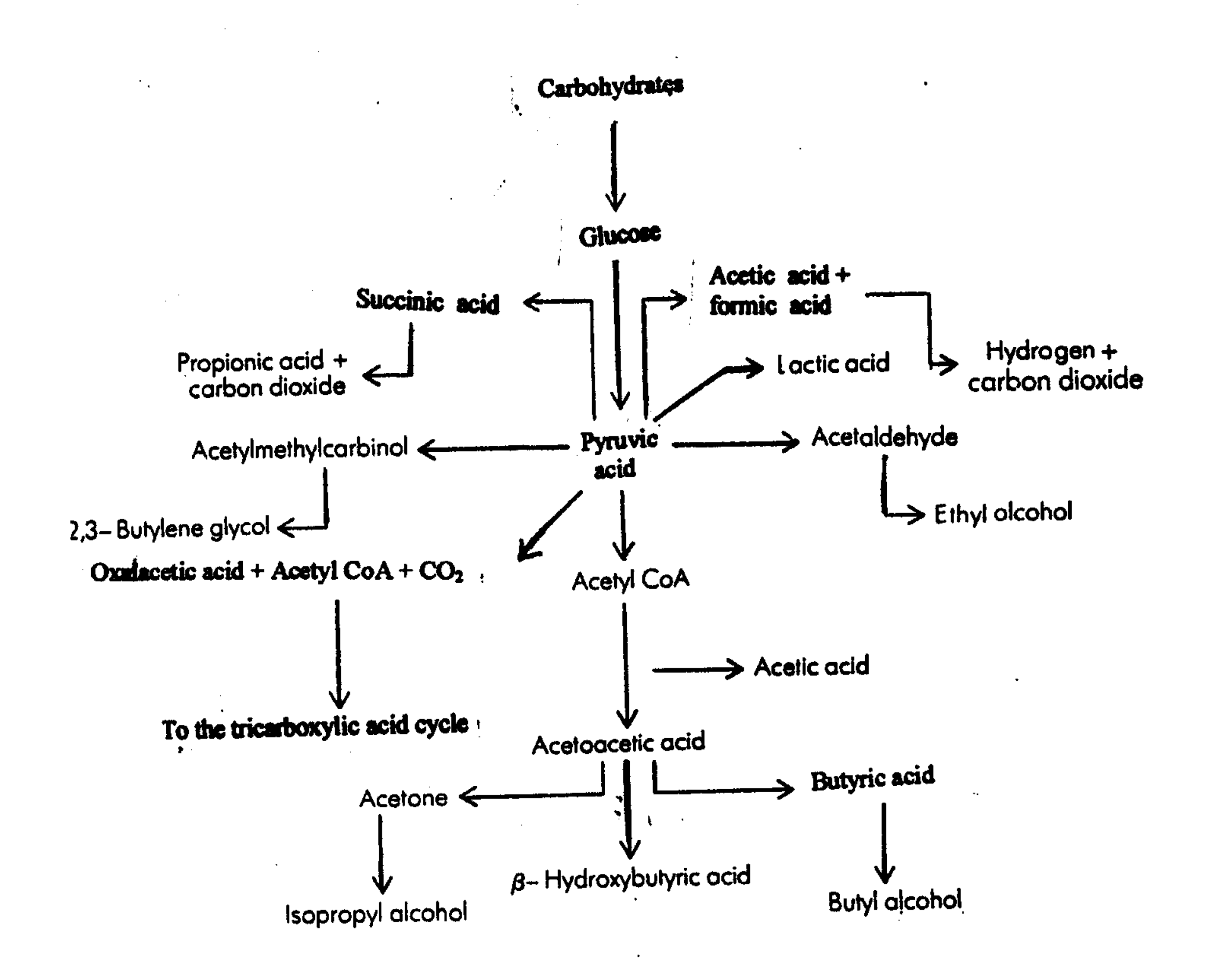


شكل ١٠ (٢) - ٥ : الخطوات المشاركة فى نزع الايدروجين من البيروفات .

Pyruvate + TPP*	$\xrightarrow{E1}$	Hydroxyethyl-TPP + CO_2
Hydroxyethyl-TPP + lipoate	$\xrightarrow{E2}$	6-S-Acetyl-dihydrolipoate + TPP
Acetyl-dihydrolipoate + CoA	$\xrightarrow{E3}$	Acetyl-CoA + dihydrolipoate
Dihydrolipoate + NAD	$\xrightarrow{E4}$	Lipoate + $NADH_2$

*TPP : Thiamine pyrophosphate

ويوضح الشكل [١٠ (٢) - ٦] المركبات التى يمكن انتاجها من حامض البيروفيك ، بواسطة أغلب أنواع البكتريا خليطة التغذية ، وذلك من تحلل سكر الجلوكوز .



شكل [١٠ (٢) - ٦ : رسم تخطيطى يوضح أهمية حامض البيروفيك كناتج أساسى من تحليل الجلوكوز ، والمركبات الممكن إنتاجها منه بواسطة أغلب أنواع البكتريا خليطة التغذية .

دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل : The tricarboxylic acid cycle (TCA cycle)

تعرف هذه الدورة أيضا باسم دورة حامض الستريك Citric acid cycle ، أو دورة كربس Krebs' cycle* ، وتساعد هذه الدورة فى أكسدة الأسيتات (٢ ذرة كربون) الى CO_2 [شكل ١٠ (٢) - ٧] ، وهناك ثلاثة إنزيمات من الديهيدروجينيز المشاركة فى هذه الدورة ، تقوم بنقل الايدروجين الى NAD (P) ، بينما يقوم إنزيم سكسنيك ديهيدروجينيز بنقل الايدروجين مباشرة الى الكينون ، وتقوم المرافقات الانزيمية بنقل الايدروجين الى السلسلة التنفسية .

وفى هذه الدورة ، يتم تكثيف الاستيل كو أ مع الاكسالوأسيتات ليتكون الستريك ، وذلك بمساعدة انزيم Citrate synthase مع إنفراد CoA .

وبالرغم من أن السترات جزىء متماثل Symmetrical molecule ، إلا أن تمثيله غير متماثل ، حيث يقوم إنزيم Aconitate hydratase بتحفيز التحول الداخلى Interconversion بين الأحماض ثلاثية الكربوكسيل

Citrate ⇌ Cis aconitate ⇌ Isocitrate

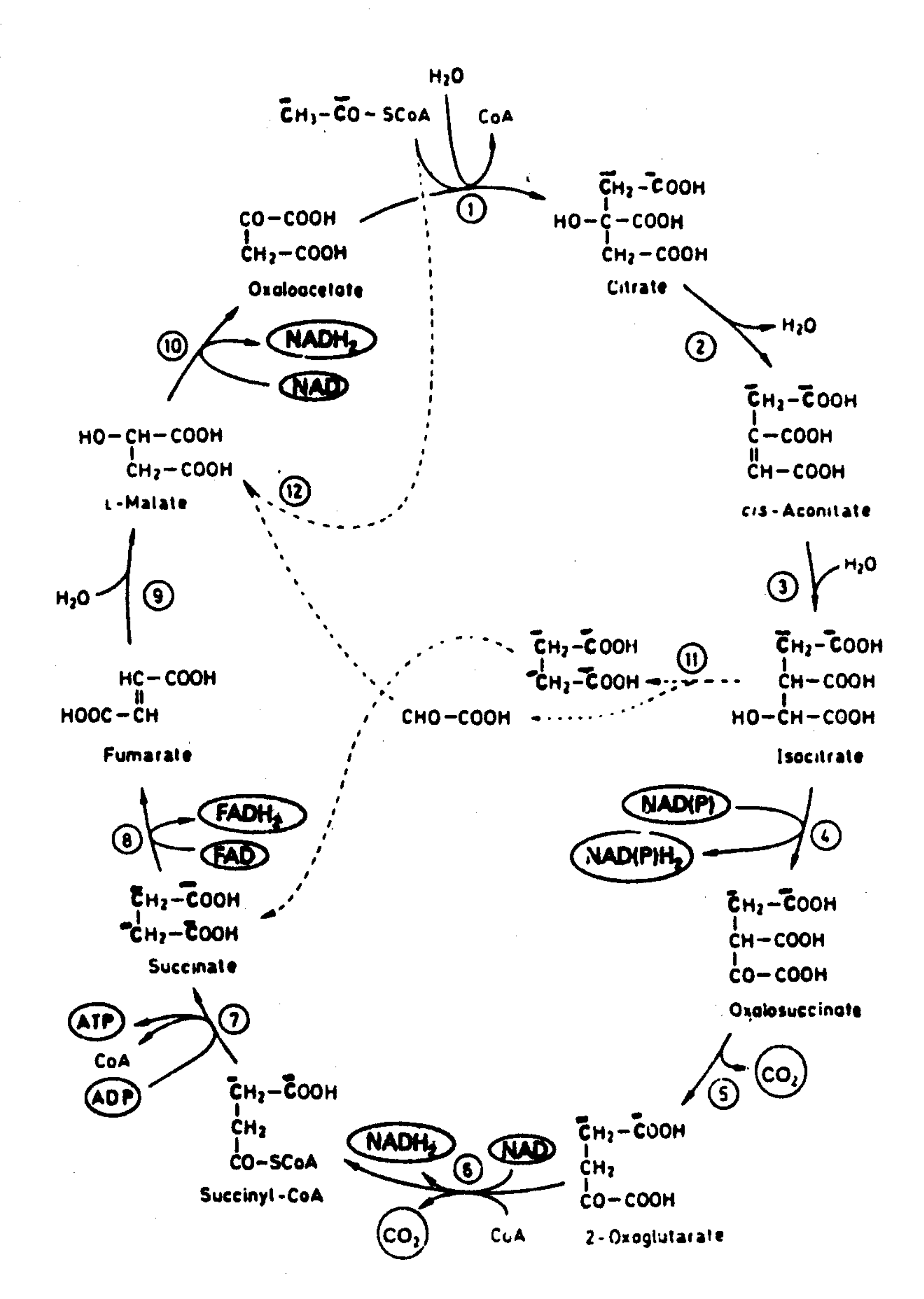
ويتحول الايسوسترات الى ٢ أكسو جلوتارات بمساعدة إنزيم ايسوسترات ديهيدروجينيز ، الذى يوجد فى شكل متخصص تماماً مع -NAD - & NADP ، ويظل المركب الوسطى أكسال سكسنيك مرتبطا ظاهرياً بالانزيم ، ثم يحفز انزيم 2-oxyglutarate dehydrogenase تفاعلاً مشابهاً للتفاعل الذى يقوم به انزيم Pyruvate dehydrogenase ، ويشارك فى التفاعل مع البروتين الانزيمى الخاص بالانزيم 2-oxyglutarate dehydrogenase ، المرافقات التالية

Thiamine pyrophosphate (TPP) , Lipoate, CoA, NAD & Mg^{2+}

---

* Krebs,Hans Adolf ، كربس

عالم الكيمياء الحيوية ، البريطانى الجنسية ، الذى وضع باقتدار مسارات دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل .



شكل ١٠ (٢) – ٧ : دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل .

ذرات الكربون المشتقة من الاسيتات ، مبينة بالخط الثقيل (وعليها شرطة) حتى الخطوة رقم ٨ ،وذلــك للدلالة على عدم تماثل الهدم الايضى للسترات ، ودورة الجليوكســيلات Glyoxylate مبينــة بخطــوط مقطعة .

والانزيمات الداخلة بدورة T C A هى

(1) Citrate synthase;
(2,3) Aconitate hydratase;
(4,5) Isocitrate dehydrogenase;
(6) Oxoglutarate dehydrogenase;
(7) Succinate thiokinase;
(8) Succinate dehydrogenase;
(9) Fumarase;
(10) Malate dehydrogenase;
(11) Isocitrate lyase;
(12) Malate synthase

تنفرد بعد ذلك السكسينات مباشرة من Succinyl CoA بمساعدة انزيم CoA-acylase أو بتفاعل ازدواجى Coupled reaction مع فسفرة ADP الى ATP

$$\text{Succinyl-CoA} + \text{ADP} + \text{Pi} \rightleftharpoons \text{Succinate} + \text{CoA} + \text{ATP}$$

ويقوم انزيم سكسينات ديهيدروجينيز بأكسدة السكسينات الى فيومارات ، وتنتقل الالكترونات الى الأوبيكينون ، وسيتوكروم ب ، ويحفز انزيم Fumarate hydratase (أو بمايسمى فيوماريز Fumarase) إضافة جزىء ماء الى الفيومارات ، وهذا التفاعل يعتبر من نوع التخصص الفراغى Stereospecific بالنسبة للإنزيم ، وينتج حامض Malate ، ثم يتعرض هذا المركب بالتبعية الى نزع الهيدروجين بمساعدة إنزيم Malate dehydrogenase ويتكون بالتالى أكسال أسيتات ، وهكذا يعاد تخليق مستقبل الاسيتات ، وتستمر الدورة .

وجدير بالذكر أن كل تفاعلات دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل ، وجزء من التفاعل الخاص بتكوين السكسنيل كو أ ، تعتبر تفاعلات عكسية .

ويلاحظ أن دورة TCA لاتعمل فقط على الاكسدة الطرفية Terminal oxidation للمغذيات ، بل تعمل أيضا على التخليق الحيوى للمواد الممهدة Precursors مثل ٢- أكسو جلوتارات وأكسال أسيتات والسكسينات . ويؤدى إزالة هذه المركبات الوسطية الى الإخلال بوظيفة الأكسال أسيتات كمادة مستقبلة للأسيتات ، وبالتالى الى توقف أو إنقطاع دورة TCA . ولتعويض هذا الفقد فى المركبات الوسطية ، يحدث مايسمى بالتفاعلات التعويضية Anaplerotic (replenishing) reactions ، التى تلعب دورا هاما فى تعويض هذا النقص . ومن أهم الميكانيكيات التعويضية فى دورة TCA ، تكوين الأحماض ثنائية الكربوكسيل والمحتوية على أربعة ذرات كربون ، وذلك بإضافة مجموعة كربوكسيل الى البيروفات أو إلى الفوسفواينول بيروفات ($C_3 + C_1 \rightarrow C_4$) ، كما سيوضح فيما بعد .

الدورات المساعدة وتخليق السكريات : Accessory cycles and gluconeogenesis*

فى حالة وجود الجلوكوز فى بيئة النمو ، فإنه يعمل كمادة ممهدة Precursors لتخليق كل أحجار البناء Building blocks التى تحتوى على جلوكوز ، رايبوز ، ديزوكسى رايبوز ... الخ . وهنا تسود التفاعلات التعويضية Anaplerotic reactions لإستكمال دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل .

بينما فى حالة نمو الخلايا على لاكتات ، بيروفات ، أسيتات ، جليوكسيلات Glyoxylate أو مركبات كربونية أخرى ، فإن المسارات الايضية الإضافية لاتكون فقط ضرورية للحفاظ على القيام بدورة TCA ، بل تعتبر أيضا ضرورية لتوفير المنتجات الوسطية اللازمة للتخليق الحيوى للوحدات السكرية Gluconeogenesis .

الجلوكوز كمادة تفاعل : Glucose as substrate

إن من أهم التفاعلات التعويضية لإستكمال دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل ، هى عمليات الكربكسلة ، أى إضافة مجموعة الكربوكسيل Carboxylation للأحماض المحتوية على ثلاث ذرات كربون [١٠ (٢) - ٨] ، وهذه التفاعلات منتشرة بدرجة كبيرة فى الخلايا الحيوانية والنباتية والميكروبية ، وذلك كما يحدث فى الأنسجة الحيوانية (كالكبد ، الكلية) وبعض المجهريات مثل Pseudomonads ، حيث يتم إضافة مجموعة الكربوكسيل الى البيروفات بمساعدة إنزيم Pyruvate carboxylase

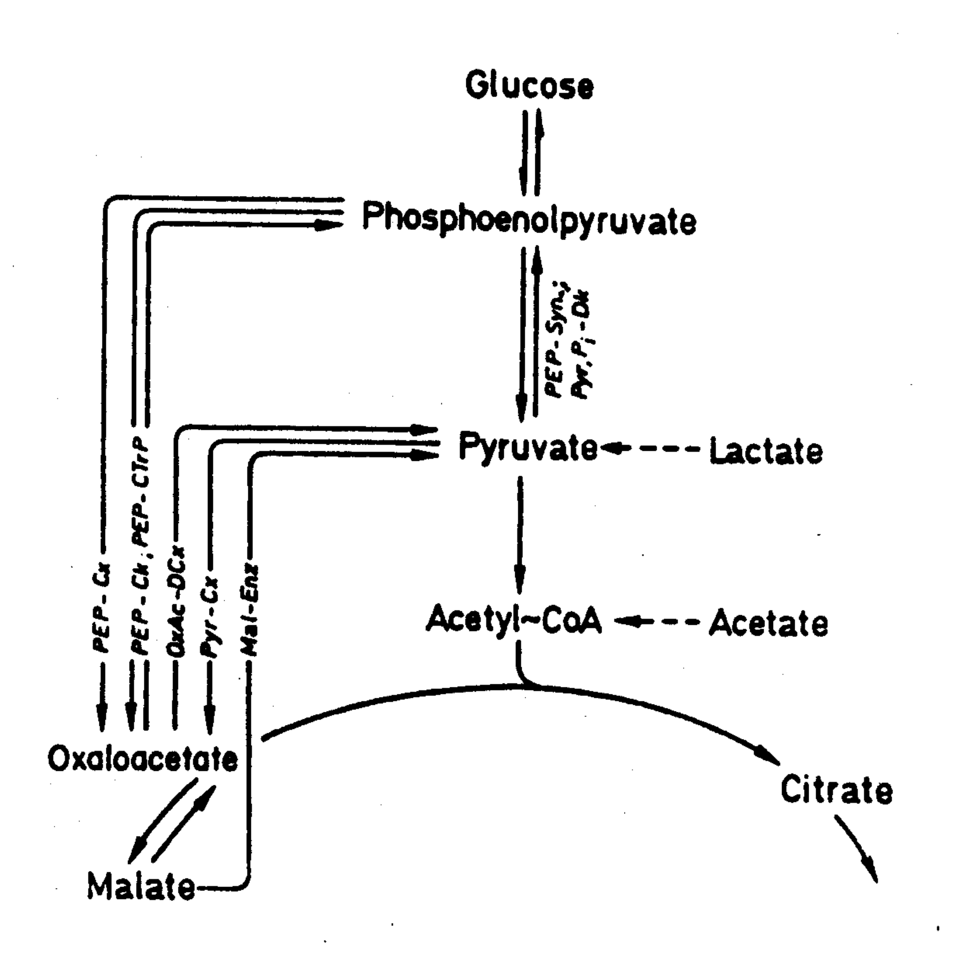
---

* أنظر تذيل ص ٧٨٢ .

$$\text{Pyruvate} + CO_2 + \text{ATP} \rightleftharpoons \text{Oxalacetate} + \text{ADP} + \text{Pi}$$

كما يتم أيضا إضافة الكربوكسيل الـــى فوســفواينول بيروفـــات ، بممســاعدة إنزيــم فوسفواينول بيروفات كربوكسيليز

$$\text{Phosphoenol pyruvate} + CO_2 + H_2O \rightleftharpoons \text{Oxalacetate} + \text{Pi}$$



شكل ١٠ (٢) – ٨ : أهم المسارات التى تربط المركبات ثلاثية الكربون (البيروفـــات والفوســفواينول بيروفات) بالمركبات رباعية الكربون (المالات ، الاكسال اسيتات)

الإنزيمات المشاركة

Mal-Enz, malate enzyme;
OxAc-DCx, oxaloacetate decarboxylase;
PEP-Ck, phosphoenol- pyruvate carboxykinase;
PEP-Cx, phosphoenolpyruvate carboxylase;
PEP-Syn, phosphoenolpyruvate synthetase ;
PEP-CTrP, phosphoenolpyruvate carboxytransphosphorylase;
Pry-Cx, pyruvate carboxylase ;
Pyr, Pi-Dk, pyruvate orthophosphate dikinase

اللاكتات والبيروفات ، والمركبات ثلاثية ذرات الكربون كمواد تفاعل

Lactate, Pyruvate and other C_3 compounds as substrates

إن نمو الخلايا على البيروفات والمركبات الأخرى المرتبطة به يعتبر ضروريا ، ليس فقط لإستكمال دورة TCA ، بل أيضا للتخليق النهائى للجلوكوز ومشتقاته . ويشمل تخليق السكريات Gluconeogenesis نفس المركبات الوسطينة التى تشارك فى دورة الانحلال الجليكولى Glycolysis . ومع ذلك ، فإن الخطوات التى تتم بمساعدة إنزيمات Pyruvate kinase, 6-phosphofructokinase & Hexokinase فى مسار الايض الهدمى ، يتم إحلالها بتفاعلات إنزيمية منتجة للطاقة (Exergonic) ، فى إتجاه تخليق الجلوكوز [شكل ١٠ (٢) - ٢] . ففى الأنسجة الحيوانية مثل الكبد والكلية ، يتم إضافة مجموعة كربوكسيل للبيروفات بمساعدة إنزيم Pyruvate carboxylase وينتج أكسالوأسيتات ، ويتبعه فى الحال تكوين فوسفواينول بيروفات بمساعدة انزيم Phosphoenol pyruvate carboxykinase

$$\text{Oxaloacetate} + \text{GTP}^{*} \longrightarrow \text{Phosphoenol pyruvate} + CO_2 + \text{GDP}^{*}$$

وجدير بالذكر ، أن تخليق فوسفواينول بيروفات من البيروفات خلال الأكسالوأسيتات ، يستهلك ٢- رابطة فوسفاتية غنية بالطاقة ، الأولى خاصة بعملية إضافة الكربوكسيل للبيروفات، والثانية خاصة بتخليق فوسفواينول بيروفات من أكسالوأسيتات .

وقد لوحظ أن هذا التفاعل يتم بصورة عكسية فقط ، فى وجود انزيم Phosphoenol pyruvate carboxylase فى الميكروبات اللاهوائية حتما والديدان ، حيث تكون المركبات ثلاثية ذرات الكربون C_3-compounds هى الباعث على تكوين الأكسالوأسيتات . كما يسود أيضا هذا التفاعل فى البيئة التى تحتوى على تركيز عالى من ثانى أكسيد الكربون .

ويمكن فسفرة البيروفات مباشرة بمساعدة Phosphoenol pyruvate synthetase ، كما فى بكتريا *E. coli* ، وبعض البكتريا الأخرى [شكل ١٠ (٢) - ٨] .

$$\textbf{Pyruvate} + \textbf{ATP} + \textbf{H}_2\textbf{O} \longrightarrow \textbf{Phosphoenolpyruvate} + \textbf{AMP}^{**} + \textbf{Pi}$$

يستهلك هذا التفاعل أيضا ٢-رابطة فوسفاتية غنية بالطاقة للانتقال من ATP الى AMP ، ثم يتم تخليق الأكسال أسيتات بمساعدة Phosphoenol pyruvate carboxylase . وجدير بالذكر أن *E. coli* لاتحتوى على Pyruvate carboxylase ، وتحتوى كل من Propionibacteria, *Acetobacter aceti, Entamoeba histolytica* and *Fusobacterium symbiosum* على انزيمات أخرى تمكنها من تكوين فوسفواينول بيروفات من البيروفات ، مثل إنزيم Pyruvate orthophosphate dikinase الذى يحفز التفاعل العكسى التالى

$$\textbf{Pyruvate} + \textbf{ATP} + \textbf{Pi} \rightleftharpoons \textbf{Phosphoenol pyruvate} + \textbf{AMP} + \textbf{PPi}$$

وفى هذا التفاعل ، نجد أنه تم الإحتفاظ بالرابطة الفوسفاتية الغنية بالطاقة .

وفى النباتات رباعية الكربون - ثنائية أحماض الكربوكسيل C_4 - dicarboxylic acid plants مثل قصب السكر والذرة ، فإن إنزيم Pyruvate orthophosphate kinase ، هو المسئول أيضا عن تخليق فوسفواينول بيروفات ، الذى يتحول بعد ذلك الى أكسال أسيتات بتأثير إنزيم Phosphoenol pyruvate carboxylase .

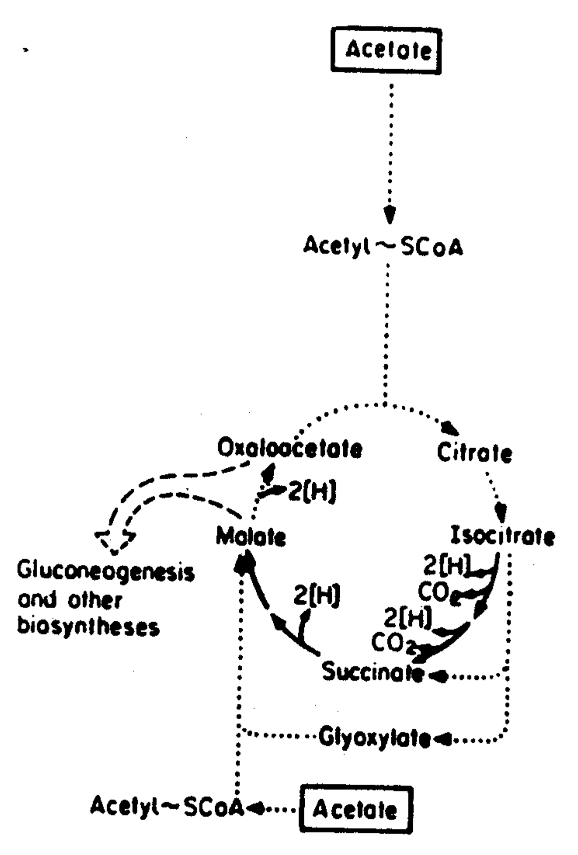
---

* GTP, GDP : Guanosine triphosphate and diphosphate

** AMP : Adenosine monophosphate

الأسيتات كمادة تفاعل : Acetate as substrate

يمكن للكائنات الحية الدقيقة أن تنمو على بيئة تحتوى على الأسيتات وعلى المركبات التى تُهدم أيضا الى أسيتات (أحماض دهنية ، هيدروكربون) ، وذلك بتأثير دورة الجليوكسيلات Glyoxylate cycle والتى تسمى أيضا بأسم Krebs-Kornberg cycle [شكل ١٠ (٢) - ٩] .



شكل ١٠ (٢) - ٩ : المسارات الأيضية الخاصة بإمداد الخلية بالطاقة والكربون اللازمين للبناء خلال النمو على الأسيتات

دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل مبينة كخطوط متصلة .

الدورة التعويضية (دورة الجليوكسيلات) مبينة كخطوط متقطعة

تعتمد هذه التفاعلات التعويضية على عمل انزيمين ، وهما Malate synthase & Isocitrate lyase ، حيث يقوم Isocitrate lyase بتحويل ايسوسترات الى سكسينات ، وجليوكسيلات ، Glyoxylate .

$$\begin{array}{c} CH_2-COOH \\ | \\ CH-COOH \\ | \\ HO-CH-COOH \\ \text{Isocitrate} \end{array} \xrightarrow{\text{Isocitrate Lyase}} \begin{array}{c} CH_2-COOH \\ | \\ CH_2-COOH \\ \text{Succinate} \end{array} + \begin{array}{c} CHO-COOH \\ \text{Glyoxylate} \end{array}$$

بينما يقوم انزيم Malate synthase بتحويل جزىء الجليوكسيلات المكثف مع جزىء اسيتيل كو أ ، إلى مالات .

$$\begin{array}{c} CHO-COOH \\ + \\ CH_3-CO-SCoA \end{array} + H_2O \xrightarrow[\text{synthase}]{\text{Malate}} \begin{array}{c} HO-CH-COOH \\ | \\ CH_2-COOH \\ \text{Malate} \end{array} + CoA\text{-}SH$$

وبذلك فإن مجموعة انزيمات Malate synthase & Isocitrate lyase ، تحول جزىء أيسوسترات مع أسيتيل كو أ ، الى جزيئين من الأحماض ثنائية الكربوكسيل والمحتوية على أربعة ذرات كربون ، وهذه يمكنها أن تتحول الى بيروفات بمساعدة إنزيم Malate synthase أو الى فوسفواينول بيروفات بمساعدة Phosphocarbohydrate carboxykinase ، وبالتالى فإنها تعزز من عملية تخليق السكريات Gluconeogenesis .

ويمكن لدورة الجليوكسيلات ، أن توفر أكسال أسيتات للتفاعلات التى يقوم بها إنزيم Citrate synthase ، وبذلك فان هذه الدورة تساعد على توفير وحدات البناء الخاصة بالتخليق الحيوى .

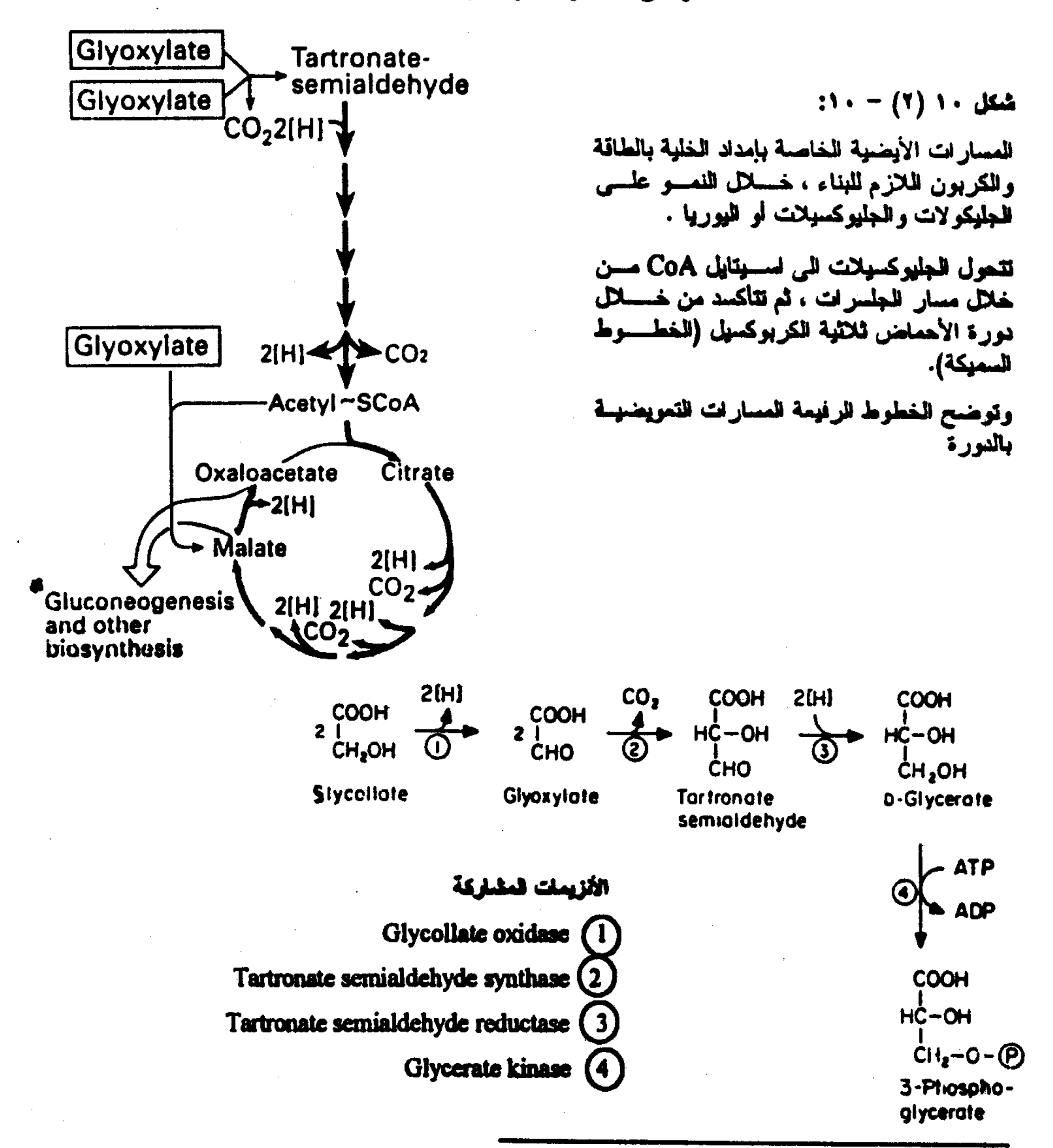
غير أنه من ناحية أخرى ، فإنه يبدو أن دورة الجليوكسيلات قليلة الأهمية ، فى إجراء التفاعلات التعويضية الخاصة بدورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل أثناء التمثيل الايضى للجلوكوز أو البيروفات أو المركبات الأخرى ثلاثية الكربون C_3 - compounds .

الجليوكسيلات كمادة تفاعل : Glyoxylate as substrate

عندما تتواجد الجليوكسيلات أو المواد الممهدة لها Precursor (جليكولات ، يوريا) فى البيئة كمصدر للكربون ، فانها تقوم بالحث على انتاج انزيمات مسار الجلسرات Glycerate pathway ، وذلك بتحويل ٢ جزىء Glyoxylate الى Tartronate semialdehyde بواسطة انزيم Tartronate semialdehyde synthase ، الذى يطلق عليه أيضا Glyoxylate carboligase ، مع انطلاق ثانى أكسيد الكربون . ويتم إختزل مجموعة الالدهيد الى مجموعة CH_2-OH ، وينتج جلسرات يمينى D-glycerate بمساعدة انزيم ريداكتيز Reductase متخصص ، ثم يفسفر الجلسرات ويتحول الى ٣-فوسفوجلسرات ، ويدخل الاستيل كو أ الناتج بهذه الطريقة فى دورة TCA،حيث يتم أكسدته [شكل ١٠ (٢) - ١٠] .

ويؤكد وجود انزيم Malate synthase على حدوث تفاعلات تعويضية للمركبات الوسطية ، حيث يحفز تحويل المزيد من جزيئات Glyoxylate فى وجود استيل كو أ الى المالات .

تنخفض كمية الانزيمات السابقة الذكر أو تختفى تماما عند النمو فى بيئة تحتوى على الجلوكوز ، وفى حالة النمو فى بيئة غذائية تحتوى على الاسيتات أو الجليوكسيلات كمصدر وحيد للكربون والطاقة ، فان هذه المواد تقوم بالحث على انتاج إنزيمات الدورات المساعدة ، والتى يصل تركيزها فى الخلايا فى هذه الحالة ، الى ١٠٠ ضعف قدر مستواها الطبيعى . وفى حالة نمو خلايا Pseudomonads أو *E. coli* على مصدرين من الكربون فى البيئة مثل الجلوكوز والاسيتات ، فإننا نجد أن الانزيمات الخاصة بتمثيل الاسيتات لايحدث لها حث Induction نظرا لوجود الجلوكوز فى البيئة ، وهى مايسمى بالكبح الهدمى Catabolic repressor (أنظر تنظيم الايض الغذائى ، بالباب التاسع ، الفصل الثانى) .



شكل ١٠ (٢) - ١٠:

المسارات الأيضية الخاصة بإمداد الخلية بالطاقة والكربون اللازم للبناء ، خلال النمو على الجليكولات والجليوكسيلات أو اليوريا .

تتحول الجليوكسيلات الى اسيتايل CoA من خلال مسار الجلسرات ، ثم تتأكسد من خلال دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل (الخطوط السميكة).

وتوضح الخطوط الرفيعة المسارات التعويضية بالدورة

---

* **تخليق الجلوكوز Glucogenesis – تخليق السكريات Gluconeogenesis**

تعني هذه المصطلحات تخليق الجلوكوز Glucose ، أو السكريات ، من أى مركب وسطى ناتج من تحلل المكسوزات بدورة التحلل الجليكولى (مثل البيروفيك واللاكتيك) ، أو من مواد أخرى مثل الجلسرول ، أو الأحماض الأمينية ... أو من غيرها .

تخليق الجليكوجين Glycogenesis

تخليق النشا الحيوان (الجليكوجين Glycogen) من بلمرة الجلوكوز .

(عكس Glycogenesis هو Glycolysis (التحلل الجليكولى) ، أنظر تذيل ص ٧٦٤)

وأنظر تذيل ص ٩٣٩ الخاص بالجلوكان .

«الباب العاشر - الفصل الثالث»
انتقال الالكترونات تحت ظروف لاهوائية

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة

«الباب العاشر - الفصل الثالث»

انتقال الالكترونات تحت ظروف لاهوائية

Electron Transport under Anaerobic Conditions

مقدمــة

تحصل البكتريا التى تعيش فى مياه البرك والمستنقعات الراكدة ، والأراضـــى الغدقــة التى تتميزبنقص الأكسجين ، على الطاقة اللازمة لها عن طريق التنفس اللاهوائى .

وتتميز هذه البكتريا بقدرتها على استخدام نواتج تمثيل المجهريات المخمرة ، كمصادر كربونيــة وكمعطيات للايدروجين ، فتستخدم الميكروبات اللاهوائية النترات ، الكبريتـــات ، الكـــبريت ، الكربونات وأيونات الحديديك وغيرها من المركبات كمستقبلات للايدروجيـــن والإلكترونـــات ، فتقوم باختزال كل من النترات الى نتروجين جزيئى و NO_2، والكبريتات والكبريت المعدنى الى كبريتيد الايدروجين ، والكربونات الى حامض أسيتيك (خليك) أو ميثان ، واخـــتزال الحديديـــك الى أيونات الحديدوز .

ويلخص الجدول [١٠ (٣) -١] تفاعلات الإختزال ، كما يوضح الجدول أنواع الايـض الغذائى وأنواع البكتريا التى تقوم بهذه التفاعلات ، ويؤدى إنتقال الالكترونات الناتجة من المـــواد العضوية الى الأيونات سالفة الذكر ، الى فسفرة تأكســدية عــن طريــق انتقـــال الالكترونـــات Electron transport phosphorylation ، وبالتالى إلى إكتساب طاقة .

وتلعب الكائنات التى تتنفس لاهوائيا ، دوراً هاماً فى استكمال دورات المعـــادن المختلفـــة فـــى الطبيعة ، وفى الحفاظ على توازنها فى منطقة المحيط الحيوى Biosphere ، وتشـــمل نواتـــج التنفس اللاهوائى ، إنطلاق غازات (N_2, NO_2, CH_4) ، وغاز الرائحة الكريهة (H_2S) ، وغـــاز الاشتعال (CH_4) ، وإنتاج أكسيد الحديد الديامغناطيسى Diamagnetic iron oxide* من أيونات الحديد غير الممغنط ، هذا بالإضافة الى أهمية دور هذه الميكروبات اللاهوائيـــة فـــى النواحـــى الاقتصادية .

---

* Diamagnetic substance : مادة ديامغناطيسية

مادة ضعيفة الانفاذية المغناطيسية ، بمعنى أنه عند تعليق قضيب من هذه المادة يتحـــرك بحالـــة حـــرة بـــين قطـــى مغناطيس ، فإن القضيب لايتوازى مع خطوط المجال ، بل يتعامد عليها .

جدول ١٠ (٣) - ١ : عمليات انتاج الطاقة بواسطة الفسفرة الناتجة من انتقال الالكترونات تحت ظروف هوائية أو لاهوائية (وتسمى أيضا تنفس هوائى أو لاهوائى) .

مادة التفاعل	نوع التنفس	المجموعة البكتيرية	أنواع ممثلة
مواد عضوية (سكريات، أحماض ، مركبات عطرية .. الخ)	**تنفس هوائى** تنفس أكسجينى O_2 → H_2O	بكتريا هوائية حتما ، أو اختيارية فى وجود O_2	*Pseudomonas aeruginosa* *Escherichia coli*
مواد غير عضوية لتوفير قوة مختزلة (H)	**تنفس لاهوائى** تنفس نتراتى NO_3^- → N_2, N_2O, NO_2^-	بكتريا هوائية أو اختيارية أو لاهوائية	*Paracoccus denitrificans* *Pseudomonas stutzeri*
	تنفس كبريتاتى SO_4^{2-} → S^{2-}	بكتريا لاهوائية حتما	*Desulfotomaculum ruminis* *Desulfovibrio desulfuricans*
	تنفس كبريتى S → S^{2-}	بكتريا اختيارية أو لاهوائية حتما	*Desulfuromonas acetoxidans* *Pyrodictium occultum*
	تنفس كربوناتى HCO_3^- ، CO_3^{2-} → CH_3 - COOH	بكتريا منتجة للاستيك	*Clostridium aceticum*
	تنفس كربوناتى HCO_3^- . CO_2 → CH_4	بكتريا منتجة للميثان	*Methanobacterium thermoautotrophicum* *Methanosarcina barkeri*
	تنفس فيوماريكى فيوماريك → سكسنيك	بكتريا منتجة للسكسنيك	*Escherichia coli* *Wolinella succinogenes*
	تنفس حديدى Fe^{3+} → Fe^{2+}	بكتريا مختزلة للحديديك	*Alteromonas putrefaciens*

طرق انتقال الالكترونات تحت الظروف اللاهوائية

تنتقل الألكترونات تحت الظروف اللاهوائية ، بواسطة الكائنات الدقيقة ، أثناء نشاطها الأيضى ، بطرق متعددة .

ومن هذه الطرق ، مايلى

١ - التنفس النتراتى : إنطلاق النتروجين (الدنترة) ، ونشدرة النترات

Nitrate respiration : Denitrification & Nitrate ammonification

تستطيع أعداد كبيرة من البكتريا إختزال النترات ، وذلك باستخدام النترات كمستقبل للالكترونات، بينما تستخدم الايدروجين كمانح للالكترونات ، وتسمى هذه العملية بالتنفس النتراتى **Nitrate respiration** ، أو تسمى بإحتزال النترات الهدمى **Dissimilatory nitrate reduction** .

ويوجد نوعين من الايض الغذائى للنترات ، هما الدنترة ونشدرة النترات ، ويتم ذلك بواسطة مجموعتين من البكتريا ، ويمكن التفريق بينهما على أساس الأدوار البيئية **Ecological** والكيموحيوية **Biochemical roles** ، لكل مجموعة بكتيرية .

أ - التنفس النتراتى : الدنترة Nitrate respiration : Denitrification

بكتريا الدنترة (بكتريا انطلاق النتروجين) Denitrifiers *

بكتريا الدنترة ، بكتريا هوائية ، ولايمكنها النمو لاهوائيا فى غياب النترات ، إذ أنه تحت الظروف اللاهوائية ووجود النترات كمصدر وحيد لإستقبال الايدروجين ، فإن بكتريا الدنترة تقوم بإختزال النترات NO_3 إلى ثانى أكسيد النتروجين NO_2 ، ثم ينطلق الأزوت الجزيئى N_2 ، وبذلك فإن الدنترة تعنى تحويل النتروجين المرتبط (NO_3) إلى N_2 حر . وتعتبر الدنترة ، العملية البيولوجية الوحيدة التى يتم عن طريقها انسياب النتروجين المرتبط ، سواء الموجود فى صورة عضوية أو غير عضوية وإعادة دورته البيولوجية . ومن أهم الأنواع البكتيرية التى تقوم بعملية الدنترة :

Bacillus licheniformis و *Paracoccus denitrificans* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Pseudomonas denitrificans* و *Thiobacillus denitrificans*

---

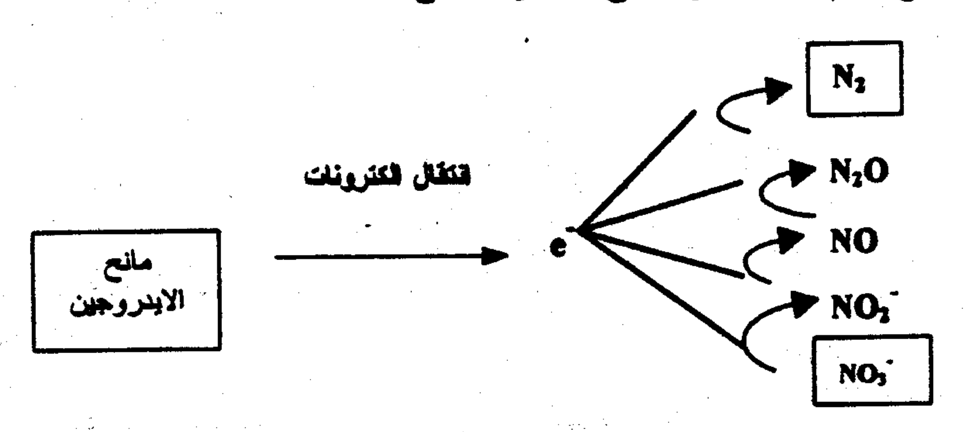
* أنظر تصنيف المجاميع البكتيرية ، الباب السابع ، الفصل الثانى .

الدنترة : Denitrification

تتم عملية إختزال النترات وإنطلاق الأزوت الجوى كما هو مبين من المعادلة التالية

$$10\,[H] + 2H^+ + 2NO_3^- \longrightarrow N_2 + 6H_2O$$

ويمكن توضيح إتمام هذه الخطوات فى التخطيط التالى

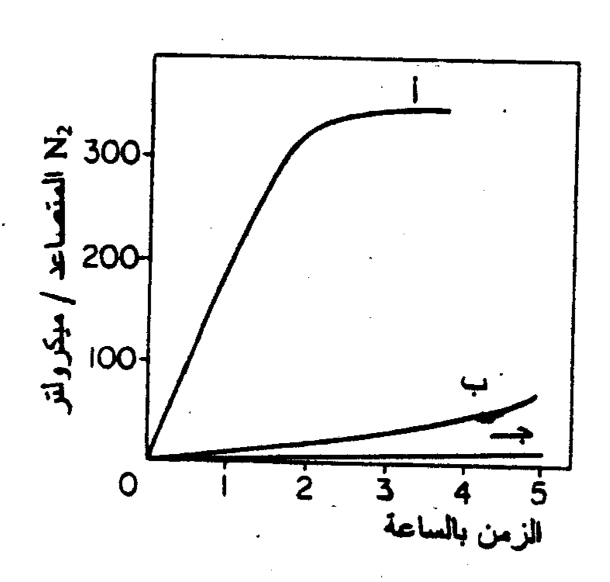


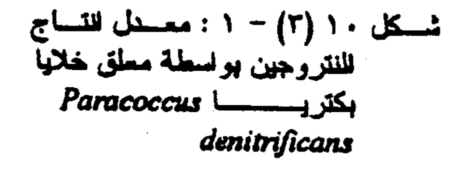
ونجد أن كل خطوة من خطوات التفاعل الموضحة بالتخطيط السابق ، يتـــم تحفيزهـــا بانزيم متخصص ، فيقوم انزيم Nitrate reductase A (يحتوى على مولبدنيوم ومرتبط بالغشـــاء البلازمى للخلية) ، بإختزال النترات NO_3^- الى نتريت NO_2^- ، ثم يختزل NO_2^- بإنزيم Nitrite reductase وينتج أكسيد النتروجين (NO) ، الذى بالتالى يختزل بفعل انزيـــم NO reductase وينتج N_2O ، الذى يتم إختزاله بإنزيم N_2O reductase إلى نتروجين جزيئى (N_2) .

وتعتمد النواتج النهائية لهذه العملية على الظروف البيئية ، فقد تتراكم مركبات وســطية مثل N_2O, NO, NO_2 ، أو تعطى ناتجا نهائيا مثل N_2 . ويحدث تراكــم للمركبـــات الوســطية السائدة عند تواجد النترات بتركيز عالى ، مع وجود تركيز محدود من مانحات الايدروجين .

وجدير بالذكر أن وصول أكسيد النتروجين NO الى الغلاف الجوى ، لايعود فقط الـــى عدم الاحتراق الكامل للفحم وزيت البترول ، ولكن يعود أيضا الى العمليـــات البيولوجيـــة التـــى تحدث فى التربة وفى المياه الراكدة .

بكتريا الدنترة هوائية ، حيث تمتلك نظام تنفس كامل Complete respiratory system ويتم حث Induction أو نزع كبح De-repressing الانزيمات اللازمة للتنفس النـــتراتى تحـــت ظروف نقص الأكسجين [شكل ١٠ (٣) - ١] . وهناك العديد من بكتريا الدنترة التى لايمكنـــها النمو فى وجود النترات ، بينما تنمو فى وجود النتريت أو N_2O كمستقبلات للايدروجين ، وهذا يدل على أن Nitrate reductase A ليس هو وحده المسئول عن هذه العمليـــة ولكـــن يشـــاركه انزيمات أخرى هى Dissimilatory nitrite - , NO - , N_2O - reducing enzymes .





شكل ١٠ (٣) - ١ : معدل انتاج للنتروجين بواسطة معلق خلايا بكتريا *Paracoccus denitrificans*

يعود تصاعد غاز N_2 الى دنترة النترات فى وجود الاسيتات وذلك تحت الظروف اللاهوائية

البكتريا فى هذه التجربة منماة تحت ظروف مختلفة

أ - تحت ظروف لاهوائية فى وجود النترات .

ب - تحت ظروف هوائية فى وجود النترات .

ج - تحت ظروف هوائية فى عدم وجود النترات

وتختلف أنواع بكتريا الدنترة النامية ، بإختلاف مانحات الايدروجين الموجودة فى البيئة الغذائية، فعند إضافة النترات الى تربة أو طين ، والتحضين تحت ظروف لاهوائية ، فإننا نلاحظ الآتى

أ - تسود *Bacillus licheniformis* فى وجود الأحماض العضوية ، الكحول ، مستخلص اللحم أو فى وجود تركيز من النترات (KNO_3) يترلوح من ٥ - ١٢% .

ب - تسود *Paracoccus denitrificans* فى وجود كميات قليلة من مستخلص الخميرة وايدروجين جزيئى كمانح للايدروجين .

جـ - تسود *Pseudomonas aeruginosa* فى وجود آثار من الببتون أو الإيثانول أو البروبيونات .

د - تسود *Pseudomonas fluorescens* فى وجود الجلوكوز .

هـ - تسود *Pseudomonas stutzeri* فى وجود الطرطرات أو السكسينات أو المالات .

و - تسود *Thiobacillus denitrificans* فى وجود الكبريت أو الثيوكبريتات .

عموما ، تسود عملية الدنترة فى الأماكن رديئة التهوية ، وخاصة تلك التى تتوافر فيها أسمدة عضوية ونترات معا ، ففى حقول الأرز على سبيل المثال ، يحدث ضرر عند التسميد النتراتى ، نتيجة لتراكم النتريت ، والذى قد يؤدى إلى تلوث مياه الشرب .

ويعزى فقد النتروجين فى التربة الزراعية تحت الظروف الهوائية ، الى تتابع عمل النظم الانزيمية الخاصة بإختزال النترات إنزيمياً فى البكتريا ، حيث تستحث هذه الانزيمات بواسطة النترات تحت الظروف اللاهوائية فقط [شكل ١٠ (٣) - ١] ، بينما يقوم الأكسجين بكبح تخليق انزيمات Nitrate & Nitrite reductases . وفى حالة حث هذه الانزيمات وتعرض الخلايا البكتيرية الى ظروف هوائية ، فإن الأكسجين يتنافس مع النترات على استقبال الالكترونات الناتجة بالسلسلة التنفسية ، ويؤدى ذلك الى تثبيط عمل نظام الاختزال النتراتى .

ب – التنفس النتراتى : نشدرة النترات: Nitrate respiration : Nitrate ammonification

تتم هذه العملية بواسطة العديد من الكائنات الحية الدقيقة ، التى من أشهرها البكتريا التابعة لفصيلة Enterobacteriaceae مثل *Escherichia coli & Enterobacter aerogenes* ، وهى بكتريا لاهوائية اختياراً ، قادرة على أن تقوم بعملية التخمير تحت ظروف لاهوائية ، واستخدام النترات كمستقبل للايدروجين والالكترونات ، مع إختزاله إلى نتريت ، فى وجود انزيمات الاختزال المتخصصة مثل Nitrate reductase B .

ويؤدى إنتقال الالكترونات الى فسفرة تأكسدية ، وبالتالى يؤدى الى اكتساب طاقة .

وفى عملية نشدرة النترات ، لايتكون نتروجين جزيئى N_2 ، بل يختزل النتريت الى نشادر NH_3 فى صورة NH_4^+ ، حيث أن التفاعل يتم عبر المسار التمثيلى الخاص بتخليق النشادر ، ووجود الأمونيا عادة مايكبح تكوين الانزيمات الخاصة بإختزال النترات

$$8\,[H] + H^+ + NO_3^- \longrightarrow NH_4^+ + OH^- + 2H_2O$$

يدخل النتروجين فى تركيب الأحماض الأمينية وغيرها من المواد الايضية ، التى تحتوى على النتروجين فى صور أمونيوم ، وتتم عملية نشدرة النترات بمساعدة إنزيمين ، الأول هو Nitrate reductase B الموجود فى سيتوبلازم الخلايا ، ويؤدى الى تكوين Nitrite ، ويقوم الانزيم التالى Nitrite reductase (ويوجد أيضا فى السيتوبلازم) بتحويل النيتريت الى أمونيوم

$$NO_3^- \xrightarrow{2e^-} NO_2^- \xrightarrow{2e^-} HNO \xrightarrow{2e^-} NH_2OH \xrightarrow{2e^-} NH_3$$

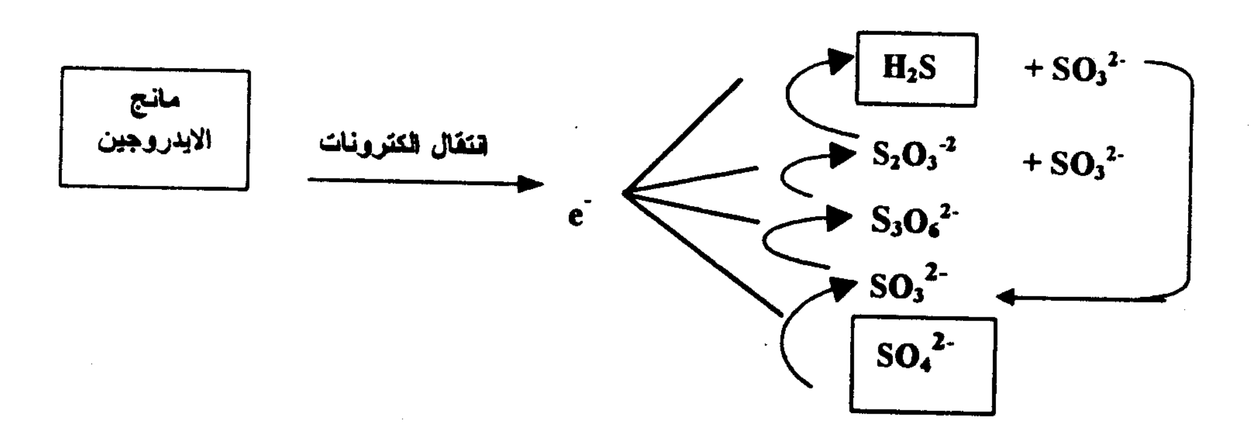
Nitrate reductase B ($NO_3^- \rightarrow NO_2^-$) — Nitrite reductase ($NO_2^- \rightarrow NH_3$)

والانزيم الثانى (Nitrite reductase) انزيم معقد ، يحتوى على مراكز كل من حديد الهيم Sirohaem ، ومراكز Fe— S ، ويحتاج التفاعل بهذا الانزيم الى ستة الكترونات يتحصل عليها عبر $NADPH_2$ ، وذلك فى حالة البكتريا والفطريات ، أو الفريدوكسين ، فى حالة البكتريا والنبات .

٢ – تكوين كبريتيد الايدروجين بإختزال الكبريتات

Hydrogen sulphide formation by sulphate reduction

تستطيع البكتريا المختزلة للكبريتات Sulphate reducers , Desulfuricants ، تمثيـــل بعض المركبات ذات الوزن الجزيئى المنخفض والتى تعمل كمانحة للايدروجين ، (مثل الخلات، اللاكتات ، البروبيونات ، البيوتـــيرات ، الفورمـــات ، الميثـــانول ، المركبـــات الأروماتيـــة ، الايدروجين) ، بينما تعمل الكبريتات كمستقبل نهائى للالكترونات كما يتضح من التخطيط التالى.



ويتم إختزال الكبريتات SO_4^{2-} الى كبريتيد H_2S ، بمشاركة سيتوكروم c وتكتسب الطاقة بـــهذه الطريقة من الفسفرة الناتجة من انتقال الالكترونات تحت الظروف اللاهوائية

وحيث أن اختزال الكبريتات مشابه تماماً للتنفس فى وجود الأكسجين ، لذلك يطلق عليه التنفـــس الكبريتاتى (الســـلفاتى) Sulphate respiration ، أو إخـــتزال الكبريتـــات بـــالايض الـــهدمى Dissimilatory sulphate reduction ، والناتج الرئيسى لهذا الاختزال هو كبريتيد الايدروجيـــن H_2S

$$8\,[H] + 2H^+ + SO_4^{2-} \longrightarrow H_2S + 4H_2O$$

وينتج معظم كبريتيد الايدروجين الموجود فى الطبيعة بالطريقة البيولوجيـــة الســـابقة ، وتختلف البكتريا المختزلة للكبريتات ، عن البكتريا المختزلة للنترات ، فـــى كونـــها لاهوائيـــة إجبارياً .

البكتريا المختزلة للكبريتات : Sulphate reducing bacteria[*]

تشمل هذه النوعية من البكتريا ، مجموعات غير متجانسة ، منها

- بكتريا حقيقية سالبة أو موجبة لصبغة جرام ، تمتلك أو لاتمتلك أسواطا ، مثل

Desulfobacillus , Desulfobacterium, Desulfococcus , Desulfomonas , Desulfosarcina , Desulfovibrio & Thermobacterium

- بكتريا حقيقية موجبة لصبغة جرام ، مكونة لجراثيم داخلية ، مثل *Desulfotomaculum* .
- بكتريا زاحفة سالبة لصبغة جرام مثل *Desulfonema* .
- الاركيوباكتريا ، مثل الأركيو المحبة للحرارة العالية التابعة لجنس *Archaeoglobus* .

والبكتريا المختزلة للكبريتات تختلف فى احتياجاتها ، فمنها ماينمو على الأسيتات أو اللاكتات أو الأحماض الدهنية الأخرى ، أو الكحولات والمركبات الأروماتية ، ومنها مايمثل الايدروجين الجزيئى ، ومنها ماهو ذاتى التغذية الذى ينمو فى وجود الايدروجين الجزيئى والثيوكبريتات .

ومن هنا نجد أن البكتريا التى تقوم بعملية التنفس الكبريتاتى ، تشكل مجموعات غير متجانسة ، سواء من ناحية طبيعة هذه البكتريا ، أو من ناحية المادة التى لها القدرة على تمثيلها ، أو من ناحية المسارات الايضية التى تسلكها .

إختزال الكبريتات : Suphate reduction

جميع أنواع البكتريا تقريبا بالإضافة الى الفطريات والنباتات الخضراء ، لها القدرة على استخدام الكبريتات كمصدر وحيد للكبريت فى البيئة ، وإنتاج الكبريتيد Sulphide ، الضرورى لتخليق الأحماض الأمينية الكبريتية ، وذلك عن طريق اختزال الكبريتات بالايض البنائى Assimilatory sulphate reduction .

وبالرغم من أن الخطوة الأولى لاختزال الكبريتات ، مشتركة فى الأيض الهدمى والايض البنائى Dissimilatory and assimilatory sulphate reduction ، وهى الخطوة التى يتم فيها تنشيط الكبريتات بواسطة انزيم ATP sulfurylase (Sulphate – adenyl transferase) وانتاج Adenosine-5-phosphosulphate, APS ، فإن إختزال الكبريتات يتم مباشرة بعد ذلك فى الأيض الهدمى بواسطة APS reductase وانتاج Sulphite & AMP .

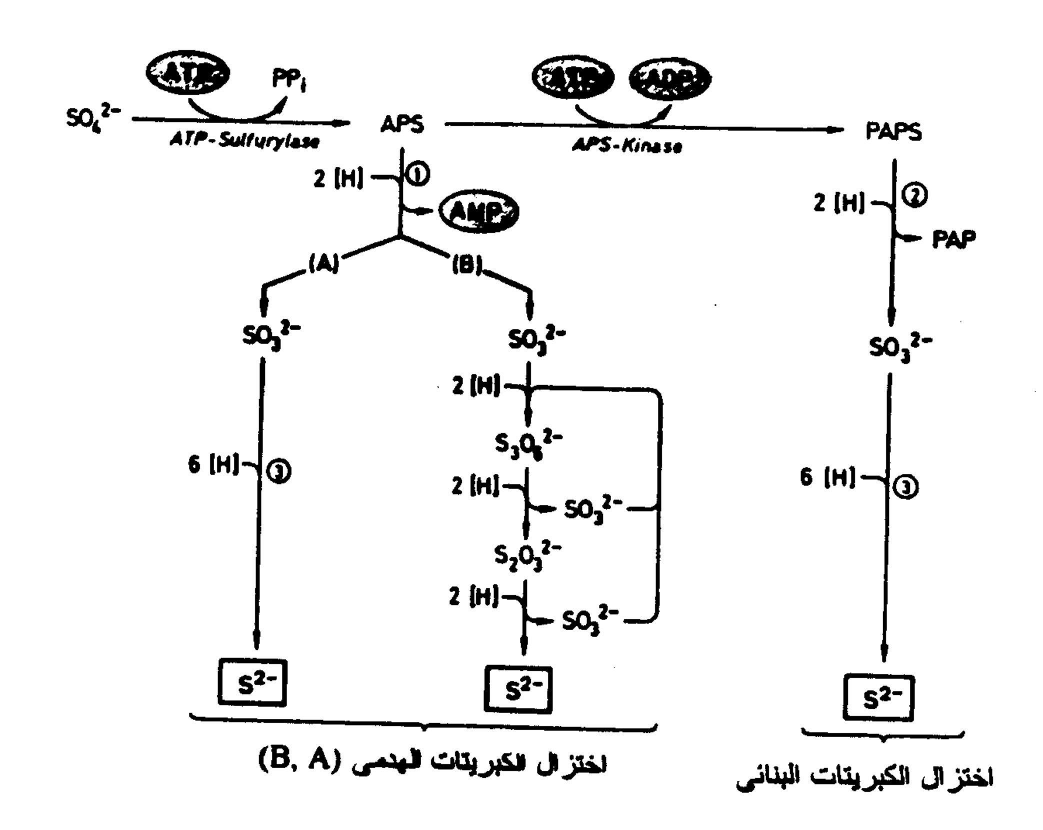
بينما فى حالة الايض البنائى ، فإن اختزال الكبريتات لايتم مباشرة ، بل يحتاج الى خطوة تنشيط أخرى ، تتم بفعل انزيم APS-kinase مع ١ مول من ATP ، وانتاج فوسفو أدينوزين – ٥ – فوسفو كبريتات Phosphoadenosine-5-phosphosulphate, PAPS ، ثم تبدأ بعد ذلك خطوات الإختزال [شكل ١٠ (٣) – ٢] من خلال انزيم PAPS reductase

$$ATP + SO_4^{2-} \longrightarrow \text{Adenosine-5-phosphosulphate} + PPi$$

الذى يكون كبريتيت Sulphite ، SO_3^{2-} — ، ويتعرض الكبريتيت بعد ذلك للإختزال بواسطة انزيم Sulphite reductase ، مكونا كبريتيد Sulphide (S^{2-}) .

---

[*] أنظر تصنيف المجاميع البكتيرية ، الباب السابع ، الفصل الثانى .



شكل ١٠ (٣) - ٢ : شكل تخطيطى للتنفس الكبريتاتى (اختزال الكبريتات الهدمى) ، واختزال الكبريتات البنائى .

الإنزيمات المشاركة

① APS reductase : Adinosine-5-phosphosulphate reductase

② PAPS reductase : Phosphoadenosine-5-phosphosulphate reductase

③ Sulphite reductase (Disulphite reductase)

تختلف ميكانيكية إختزال الكبريتيت SO_3^{2-} بإختلاف أنواع البكتريا ، حيث يقوم انزيم Sulphite reductase بإختزال الكبريتيت بمساعدة ستة الكترونات فى خطوة واحدة وبدون تكون مركبات وسطية وذلك فى نظام اختزال الكبريتات الهدمى (أ) Dessimilatory sulphate reduction (A) ، وهذا النوع من الاختزال بالاضافة الى الاختزال بنظام اختزال الكبريتات البنائى Assimilatory sulphate reduction ، يتضمن مركبات بورفرين الحديد (Desulphoviridin & Desulphorubidin) ، بينما فى الميكانيكية الأخرى والتى تتم فى نظام أختزال الكبريتات الهدمى (ب) Dissimilatory sulphate reduction (B) ، فإنه يتم فيها إختزال SO_3^{2-} على ثلاث خطوات متتالية ، وهنا يحدث إنطلاق للمركبات الوسطية (Thiosulphate, Trithionate) شكل [١٠ (٣) - ٢] ، ويعتقد أن الالكترونات اللازمة لهذا التفاعل تحصل عليها البكتريا ، عبر سيتوكروم (c) فى بعض أنواع البكتريا ، وعبر سيتوكروم (b) فى أنواع أخرى من البكتريا .

٣- تكون الميثان باختزال الكربونات

The formation of methane by reduction of carbonate

يتكون الميثان نتيجة الهدم الأيضي للمواد العضوية تحت الظروف اللاهوائية ، كما أن ١-١,٥% من الكربون المنطلق فى الغلاف الجوى على صورة CO_2 ، يتكون نتيجة عملية معدنة للمواد العضوية ، التى تصل الى الغلاف الجوى أولا فى صورة ميثان ، ثم تتحول عبر أول أكسيد الكربون (CO) إلى ثانى أكسيد الكربون CO_2 .

وينتج غاز الميثان بواسطة البكتريا المنتجة لغاز الميثان ، فى الأوساط اللاهوائية ، مثل مياه المستنقعات ، ورواسب قاع البحيرات ، وحقول الأرز ، وأراضى الملاحات ، ومخلفات المجارى وكرش المجترات . وفى هذه الأوساط اللاهوائية تتخمر المواد العضوية أولا الى مركبات وسطية وغاز CO_2 & H_2 ، ثم تقوم بكتريا الميثان بتحويل هذه النواتج الى ميثان . ويجدر الاشارة إلى أن ٧٠% من غاز الميثان الكلى المنتج ، يتكون من الأسيتات ، بينما ينتج ٣٠% من CO_2 و H_2 .

البكتريا المنتجة لغاز الميثان : Methanogens*

تقسم البكتريا المنتجة لغاز الميثان من الناحية المورفولوجية الى أربعة مجاميع مختلفة هى : بكتريا الميثان العصوية *Methanobacterium* ، وبكتريا الميثان الكروية *Methanococcus* ، وبكتريا الميثان المكعبة *Methanosarcina* ، وأخيراً بكتريا الميثان الحلزونية *Methanospirillum* .

وتنتمى البكتريا المنتجة لغاز الميثان لمجموعة خاصة من البكتريا تسمى مجموعة الاركيوبكتريا Archaeobacteria ، والتى تختلف عن مجاميع البكتريا الأخرى ليس فقط فى طريقة أيضها الغذائى ، ولكن أيضا فى تركيبها الخلوى ، حيث لاتحتوى جدر خلايا بكتريا الميثان على Peptidoglycan ، فتحتوى *Methanococcus* على غلاف بروتينى فقط ، بينما يوجد غلاف من الببتيد فى *Methanospirillum* ، ويتكون الجدار الخلوى فى بكتريا *Methanosarcina barkeri* من مواد عديدة التسكر تحتوى على أحماض يوررونيك وسكريات متعادلة وسكريات أمينية ، كما لاتتأثر بكتريا الميثان بالبنسلين .

والبكتريا المنتجة لغاز الميثان بكتريا لاهوائية حتماً ، لاتحتوى على انزيم كتاليز ، ولا على انزيم Superoxide dismutase ، وهى شديدة الحساسية للأكسجين . ومعظم أنواع بكتريا الميثان يمكنها استخدام الايدروجين الجزيئى كمانح للإيدروجين ، بينما باقى الأنواع الأخرى تستخدم الفورمات أو الميثانول أو الاسيتات أو الميثايل أمين .

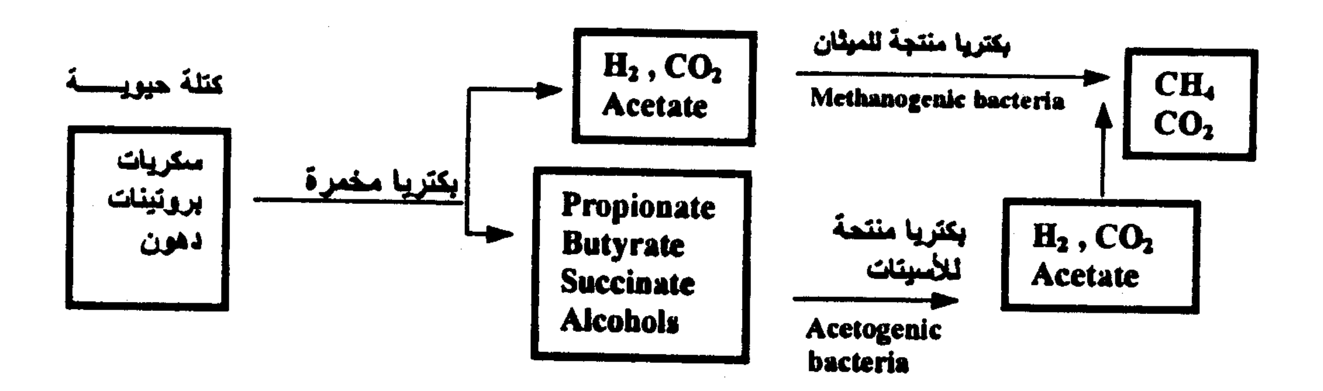
تعتبر البكتريا المنتجة لغاز الميثان أخر حلقة فى حلقات سلسلة التغذية اللاهوائية Anaerobic nutritional chain ، والتى تبدأ بعديدات التسكر (سليلوز ، نشا) ، والبروتينات والليبيدات ، ويشارك فى هذه السلسلة العديد من البكتريا المخمرة :

(١) تبدأ بكتريا التخمر Fermentative bacteria بتحويل السليلوز الى سكسينات ، بروبيونات ، بيوتيرات ، لاكتات ، أسيتات ، كحولات ، CO_2 , H_2 .

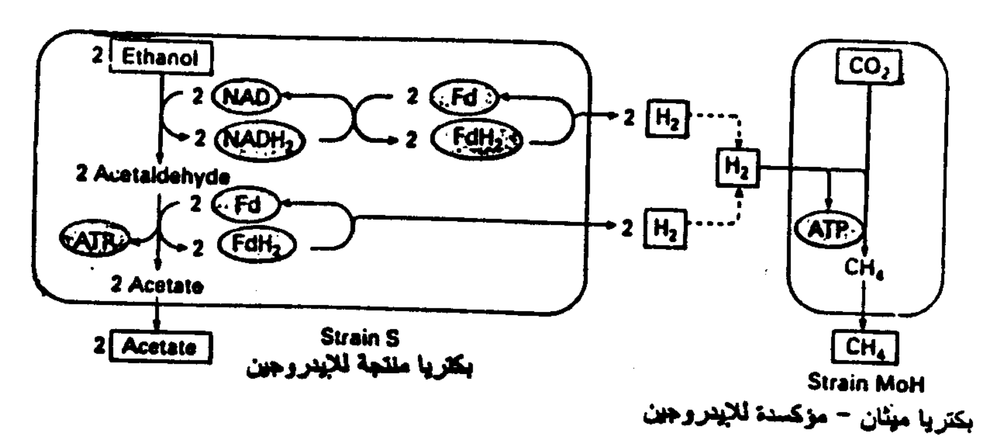
* أنظر تصنيف المجاميع البكتيرية ، الباب السابع ، الفصل الثانى .

(٢) تعمل البكتريا المنتجة للأسيتات Acetogenic bacteria على تخمير المنتجــات الســابقة ، وتحويلها الى أسيتات ، فورمات ، CO_2 , H_2 .

(٣) وبعد ذلك تقوم بكتريا الميثان باستخدام هذه النواتج الوسطية وتكوين غاز الميثان كما هــو موضح فى الرسم التخطيطى التالى



تعيش بكتريا الميثان بالقرب من البكتريا المنتجة للايدروجين [شــكل ١٠ (٣) - ٣] ، فى حالة تكافل متبادل Mutual symbiosis ، حيث تقوم بكتريا الميثان باستهلاك الايدروجيــن الذائب ، والذى يؤدى زيادة تركيزه الى حدوث سمية للبكتريا المنتجة له .

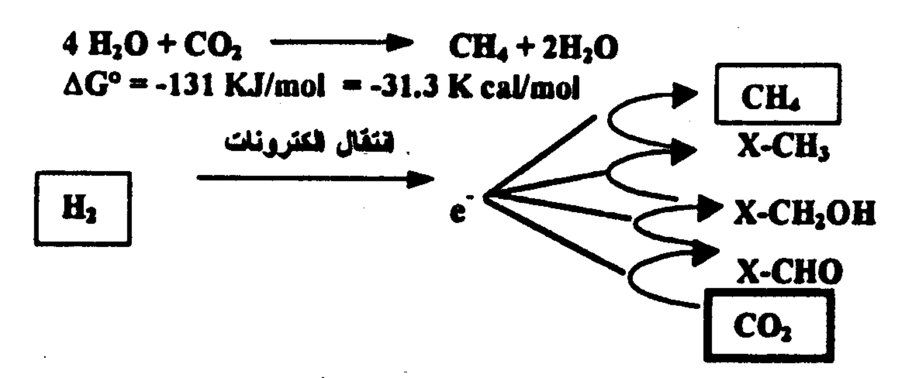


شكل ١٠ (٣) - ٣ : انتقال الايدروجين بين نوعين من البكتريا

سلالة ميثانوبكتريا مؤكسدة للايدروجين Strain MoH : Methanobacteria-oxidizing hydrogen .

بكتريا منتجة للايدروجين Strain S: Hydrogen-producing bacteria

وبكتريا الميثان قادرة على أن تنشط الايدروجين ، وتربط أكسدته بتفاعلات ازدواجية لاختزال CO_2 ، حيث أنها تستطيع أن تستخدم غاز CO_2 كمصدر وحيد للكربون ، وبذلك يُختزل CO_2 الــى CH_4 مع تولد طاقة ، (كما يتضح من التخطيط التالى) ، ولذلك فانه يمكن النظــر الــى عمليــة تكوين غاز الميثان ، الى أنها عملية مشابهة وظيفياً لعمليــة التنفــس الكربونــاتى Carbonate respiration .



إضافة إلى ذلك ، فإن هناك بعضا من بكتريا الميثان التى يمكنها تحويل أول أكسيد الكربون (CO) الى الميثان ، مع تكوين CO_2 وايدروجين كمركبات وسطية .

وتشمل عملية التحول البيوكيميائى للإيدروجين و CO_2 الى CH_4 ، وتحول الاسيتات الى ميثان و CO_2 ، عددا من المرافقات الانزيمية Coenzymes ، والمجموعات المنضمة Prosthetic group ، التى وجدت فى بكتريا الميثان .

والشكل رقم [١٠ (٣) - ٤] يبين التركيب البنائى للمرافقات الانزيمية ، والمجموعات المنضمة ، الموجودة بالبكتريا المنتجة لغاز الميثان .

A $HS-CH_2-CH_2-SO_3H$

B $HS-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-C(=O)-NH-CH(COO^-)-CH(CH_3)-O-PO_3H_2$

C (+2[H] / -2[H])

D

E

F

شكل ١٠ (٣) - ٤ : المرافقات الإنزيمية والمجاميع المنضمة فى البكتريا المنتجة لغاز الميثان

A- Co-enzyme M : Mercaptoethane sulphonate
B- HS-HTP
C- F420 : Deazariboflavin derivative
D- Methanoprotein
E- Methanofuran
F- Factor 430, Nickel-tetrapyrrol

R. a. e : سلاسل جانبية لمركبات متعددة

• المجاميع النشطة فى مركبات A, B, C, E ذات بنط أسود

• والمجاميع النشطة فى مركبات D , F غير مبينة بالشكل

والتخطيط التالى يوضح المسارات المحتملة ، لتكوين غاز الميثان

(أ) من الأسيتات ، و (ب) من CO_2 و H_2 ،
مع تكوين ATP فى الخطوات الأخيرة من المسار .

(ا) تكوين غاز الميثان من الأسيتات

(ب) تكوين غاز للميثان من H_2 & CO_2

٤- تكوين السكسينات بإختزال الفيومارات

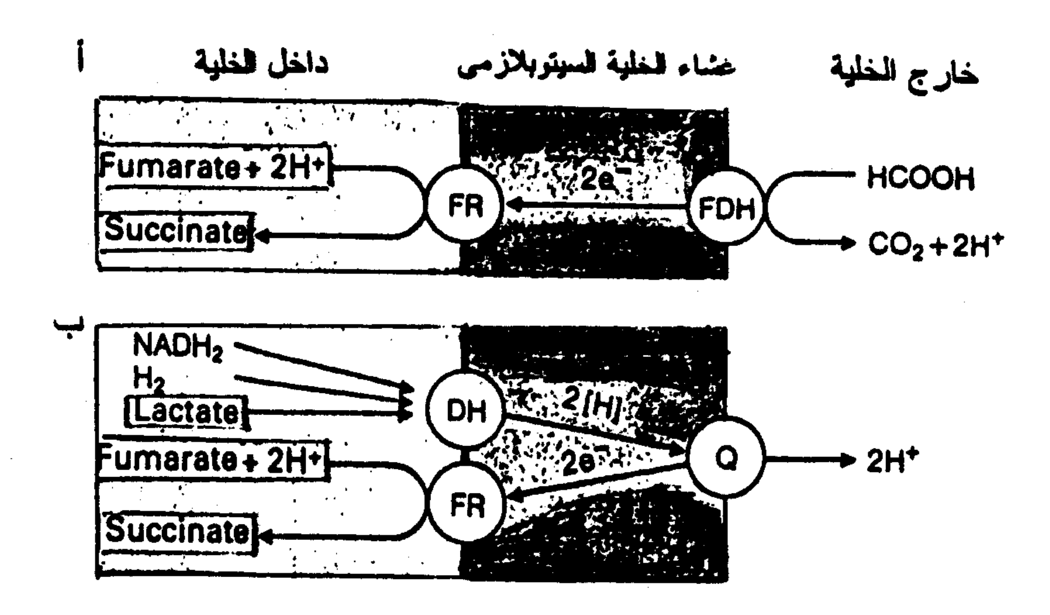
The formation of succinate by reduction of fumarate

يصاحب تكوين السكسينات حدوث فسفرة تأكسدية ، تتم بواسطة انتقال الالكترونات Electron transport phosphorylation ، وذلك أثناء عملية إختزال الفيومارات الى سكسينات

2 [H] + Fumarate ⟶ Succinate

وتمتد وظيفة الفيومارات الى أبعد من أنها تستقبل القوة الاختزالية الخاصة بالمرافق الانزيمى ($NADH_2$) المنتج أثناء المراحل الأولى لايض الجلوكوز ، إذ أننا نلاحظ أن جهد الأكسدة والاختزال (Eo) لنظام الفيومارات / سكسينات ، عالى نسبياً حيث يصل الى -٣٠ مللى فولت ، لذا فان الفيومارات قادرة أيضا على استقبال الالكترونات من المرافقات الانزيمية الأخرى الناقلة للايدروجين ، الموجودة بالسلسلة التنفسية .

وحيث أن الفيومارات هى المستقبل النهائى للإلكترونات ، فان هـــذا التنفـــس يعـــرف بالتنفس الفيوماراتى Fumarate respiration [شكل ١٠ (٣) - ٥] .



شكل ١٠ (٣) - ٥ : تكون السكسينات بإختزال الفيومارات

الالكترونات اللازمة لاختزال الفيومارات ريداكتيز FR ، مصادرها

أ - من أكسدة الفيومارات الى CO_2 بواسطة فيومارات ديهيدروجينيز FDH

ب - أو من أكسدة $NADH_2$ أو H_2 أو اللاكتات بالديهيدروجينيز DH المقابل .

وكلا التفاعلين أ ، ب ، يؤديان الى تكون فرق جهد للبروتون على الغشاء السيتوبلازمى للخليـــة البكتيرية ، مما يؤدى الى حدوث فسفرة بإنتقال الالكترونات .

والتنفس الفيوماراتى واسع الانتشار فى البكتريا اللاهوائية ، عضوية التغذية كيميائيـــة الطاقة Chemoorganotrophic ، حيث لوحظ أن إضافة الفيومارات للبيئة الغذائية يسرع مـــن نموها ، ويعطى محصولاً عالياً من خلاياها ، وهذا دليل على قدرة الفيومارات على إعادة توليـــد ATP ، وقد وجد أن إختزال مول واحد من الفيومارات ، يعيد تكوين مول واحـــد مـــن ATP . كما وجد أن معظم المنتجات التخميرية المصاحبة لتكويـــن السكســـينات تحتـــوى علـــى انزيـــم Fumarate reductase ، وهذا يعنى مصدراً إضافياً لتكوين ATP .

ومن الأجناس البكتيرية التى ينتشر بها التنفس الفيوماراتى

Escherichia, Klebsiella, Proteus, Salmonella

بالإضافة الى *Bacteroides, Propionibacterium & Vibrio succinogenes* .

• - تكوين الأسيتات بإختزال الكربونات

The formation of acetate by reduction of carbonate

تتكون الاسيتات فى الأوساط التى يتكون فيها الميثان ، وتساهم بكتريا الاسيتات فى زيادة الحموضة بأحواض الهضم الخاصة بمعاملة مخلفات المجارى ، وذلك عن طريق تمثيل CO_2 والايدروجين الجزيئى تبعاً للمعادلة الآتية

$$4H_2 + 2CO_2 \longrightarrow CH_3-COOH + 2H_2O$$

$$\Delta G^{\circ} = -111 \text{ kJ/mol} \quad (-26.6 \text{ k cal/mol})$$

وقد أمكن عزل بعضا من بكتريا الاسيتات من طين قاع البحار ومن المياه العذبة ، ومن الرواسب الصلبه ، وذلك باستخدام بيئة إكثار تحتوى على الأملاح المعدنية الضرورية والفيتامينات مع امدادها بالـ CO_2 و H_2 ، ووجد أنها بكتريا عصوية موجبة لصبغة جرام ، مثل *Clostridium aceticum , C. thermoaceticum* .

والبكتريا المنتجة للأسيتات Acetogenic bacteria ، بكتريا لاهوائية ، مؤكسدة للايدروجين ، تستمد طاقتها الايضية بنوع من التنفس اللاهوائى يسمى بالتنفس الكربوناتى Carbonate respiration . وتقوم هذه البكتريا بتخليق المواد الخلوية عبر اسيتايل كو أ Acetyl CoA والبيروفيك ، وبالتالى فانه يتخلق الاسيتات ، ويختزل CO_2 الى Methyl-FH_4 عبر الفورمات فى وجود Tetrahydrofolate كمرافق انزيمى .

تقوم البكتريا التى تتميز بالتنفس الكربوناتى بإنتاج كميات كبيرة من الاسيتات أثناء النمو على بيئة تحتوى على CO_2 و H_2 ، ويساعد فى تكوين الأسيتات الرابطة الغنية فى اسيتايل كو أ التى تستخدم لإعادة تخليق ATP ، كمصدر للطاقة .

وقد أمكن تنمية بعض البكتريا الحقيقية اللاهوائية حتماً والمحبة بدرجة كبيرة للحرارة العالية Extremely thermophilic والمعزولة حديثا من الينابيع الساخنة ، على بيئة معدنية فى وجود أول أكسيد الكربون النقى ، وكانت النواتج الأيضية عبارة عن ايدروجين جزيئى و CO_2 وذلك عبر مسار اسيتايل كو أ الاختزالى Reductive acetyl CoA pathway .

٦- إختزال أيونات الحديديك إلى حديدوز

Reduction of iron III (Fe^{3+}) to iron II (Fe^{2+}) ions

تقوم المزارع الميكروبية الخليطة فى التربة الزراعية بإختزال أيونات الحديديك Fe^{3+} الى أيونات الحديدوز Fe^{2+} . وفى حالة وجود النترات فى الوسط * ، فإنه يتم إختزال الحديديك، بعد تحول النترات الى نتريت أو الى نتروجين جزيئى (دنترة) ، ويُسرِّع وجود النترات من عملية إختزال أيونات الحديديك ، كما يقوم Nitrate reductase A بنقل الالكترونات الى الحديديك ، ونظراً لأن إختزال النترات يصاحبه فسفرة بواسطة انتقال الالكترونات Electron transport phosphorylation ، مع إختزال للحديديك ، فإن ذلك يسمح بحدوث التنفس اللاهوائى للخلايا .

إن جهد الأكسدة والاختزال Eo لنظام حديديك / حديدوز Fe III/Fe II يساوى + ٧٧٠ ملليفولت ، مما يجعل الوسط له ديناميكية حرارية ملائمة لاتمام التفاعل . وقد تم عزل سلالة لبكتريا *Alteromonas* GS-15 ، لها القدرة على استخدام الاسيتات كمصدر للكربون ومانح للايدروجين ، مع استخدام Fe^{3+} كمستقبل للايدروجين وذلك فى غياب الأكسجين .

وأثناء إختزال Fe^{3+} بواسطة الأسيتات ، فإنه يتكون مخلوط من Fe^{3+} & Fe^{2+} ، ويتحول الى صورة الأكسيد Fe_3O_4 (حديد الماجنتايت Magnetite) ، والذى يعتبر من أقوى صور الحديد الممغنطة . ويمكن الاستدلال على نواتج الأيض الغذائى للميكروبات المختزلة للحديد باستخدام مغناطيس .

تقوم مخلبيات الحديد البكتيرية Siderophores ، بجذب الحديد الى الخلايا ، وذلك بعد تحويله الى الصورة الذائبة التى تمكنه من النفاذ من خلال جدر الخلايا ، غير أنه تحت هذه الظروف فإن النمو البكتيرى يكون بطيئا وقليلاً ، إذا ماقورن بنمو الخلايا النامية فى وسط به حديد ميسر .

---

* راجع التنفس النتراتى ص ٧٨٧ ومايليها .

(الباب العاشر - الفصل الرابع)
مانحات الايدروجين غير العضوية
البكتريا الهوائية معدنية التغذية كيميائية الطاقة

المحتويـــات

﴿الباب العاشر - الفصل الرابع﴾
مانحات الايدروجين غير العضوية
البكتريا الهوائية معدنية التغذية كيميائية الطاقة
Inorganic Hydrogen Donors
Aerobic Chemolithotrophic Bacteria

المجاميع البكتيرية الهوائية معدنية التغذية كيميائية الطاقة

هناك العديد من البكتريا التى تعيش فى التربة أو الماء ، ولها القدرة علـــى اســتخدام المركبات الغير عضوية أو الأيونات (أمونيوم ، نترات ، كبريتيد ، كبريتيت ، ثيوكبريتات ، أو أيونات الحديدوز) ، بالاضافة الى الكبريت المعدنى أو الايدروجين أو أول أكســيد الكربــون ، كإلكترونات أو مانحات للايدروجين ، وبالتالى تحصل هذه البكتريا على الطاقة والقوة الإختزاليــة اللازمة للعمليات التخليقية ، نتيجة أكسدة تلك المركبات غير العضوية ، وذلك فى وجود جــزىء الأكسجين كمستقبل نهائى للإلكترونات [جدول ١٠ (٤) - ١] .

جدول ١٠ (٤) - ١ : المجاميع البكتيرية الهوائية معدنية التغذية كيميائية الطاقة
Aerobic chemolithoautotrophic bacteria

المجموعة البكتيرية	الأنواع الممثلة	مانحات الالكترون غير العضوية		الناتج المؤكسد
مؤكسد للأمونيا Ammonium oxidizers	*Nitrosomonas europaea*	NH_3	$\xrightarrow{O_2}$	NO^-_2
مؤكسدة للنتريت Nitrite oxidizers	*Nitrobacter winogradskyi*	NO^-_2	$\xrightarrow{O_2}$	NO^-_3
مؤكسدة للكبريت Sulphur oxidizers	*Thiobacillus thiooxidans*	$S^0, S^{2-}, S_2O_3^{2-}$	$\xrightarrow{O_2}$	SO_4^{2-}
بكتريا الحديد Iron bacteria	*Thiobacillus ferrooxidans*	Fe^{2+}	$\xrightarrow{O_2}$	Fe^{3+}
منتجة للايدروجين H_2 producers	*Alcaligenes eutrophus*	H_2	$\xrightarrow{O_2}$	H_2O
مؤكسدة لأول أكسيد الكربون Carboxydobacteria	*Pseudomonas carboxydovorans*	CO	$\xrightarrow{O_2}$	CO_2

وجدير بالذكر ، أن هناك أنواع قليلة من هذه المجموعة البكتيرية ، يمكنها النمو في وجود النترات أو النتريت أو أكسيد النتروز كمستقبلات للايدروجين ، وذلك في حالة التنفس اللاهوائي ، وهذا النمط من الحياة في وجود مانحات الايدروجين المعدنى ، يطلق عليه نظام التغذية المعدنى كيميائى الطاقة Chemolithotrophy .

معظم أنواع البكتريا التى تقوم بهذا النوع من الايض الغذائى ، تنمو فى وجود ثانى أكسيد الكربون كمصدر وحيد أو رئيسى للكربون ، وتقوم بتثبيت CO_2 عبر دورة الريبلوز ثنائى (داى) الفوسفات (دورة كالفن) ، كما أن بعض هذه البكتريا معدنية التغذية كيميائية الطاقة إجبارا Obligatory chemolithotrophs ، والبعض الآخر إختيارى Facultatively chemolithotrophs ، بمعنى أنها تستطيع النمو أيضا على مواد عضوية . ومعظم أنواع البكتريا معدنية التغذية كيميائية الطاقة شديدة التخصص فيما تقوم به ، **وفيما يلى ، أهم هذه المجاميع البكتيرية ، وماتقوم به من أدوار فى أكسدة المواد غير العضوية .**

أكسدة الأمونيوم والنيتريت : التأزوت (النترتة)

Ammonium & Nitrite oxidation: Nitrification

تنفرد الأمونيا من المواد العضوية النتروجينية الموجودة بالتربة ، عند تحلل هذه المواد تحت الظروف الهوائية أو اللاهوائية . وتتم عملية تحويل الأمونيوم إلى نتريت ونترات في التربة الزراعية بالأكسدة ، بواسطة بكتريا التأزوت Nitrifying bacteria * وتعرف هذه العملية بالتأزوت أو بالنترتة Nitrification . ويشترك فى عملية الأكسدة نوعين من البكتريا [جدول ١٠ (٤) - ٢] .

- **بكتريا مؤكسدة للأمونيوم** Ammonium oxidizers ، مع تكوين النتريت .
  ومن أمثلة هذه البكتريا Nitrosomonas europaea .
- **بكتريا مؤكسدة للنتريت** Nitrite oxidizers ، مع تكوين النترات .
  ومن أمثلة هذه البكتريا *Nitrobacter winogradski* .

وجدير بالذكر ، أن زيادة تركيز الأمونيوم فى الأراضى القلوية ، له تأثير سام على بكتريا *Nitrobacter* ، غير أنه بوجود البكتريا المؤكسدة للأمونيوم مثل *Nitrosomonas* ، التى تحول الأمونيا إلى نتريت ، فإنها توفر الظروف المناسبة لنشاط بكتريا النيتروباكتر المؤكسدة للنتريت .

جدول ١٠ (٤) - ٢ : بكتريا التأزوت (النترته) .

مؤكسدة للأمونيوم	مؤكسدة للنتريت
Ammonium-oxidizing (nitroso-) $NH_4^+ + 1\frac{1}{2} O_2 \rightarrow NO_2^- + 2H^+ + H_2O$	Nitrite-oxidizing (nitro-) $NO_2^- + \frac{1}{2} O_2 \rightarrow NO_3^-$
Nitrosococcus oceanus	*Nitrobacter agilis*
Nitrosolobus multiformis	*Nitrobacter hamburgensis*
Nitrosomonas europaea	*Nitrobacter winogradskyi*
Nitrosospira briensis	*Nitrococcus mobilis*

* أنظر تصنيف المجاميع البكترية ، الباب السابع ، الفصل الثان .

وبكتريا التأزت سالبة لصبغة جرام ، وتتبع فصيلة Nitrobacteriaceae ومن أهم أنواعها *Nitrosomonas europaea* ، وهى عصوية الشكل ولها سوط طرفى ، وأيضا *Nitrosococcus oceanus* ، وهذه لها دور كبير فى أكسدة الأمونيوم فى البحار .

ويمكن تنمية بكتريا التأزت فى بيئة سائلة تحتوى على أملاح معدنية نقية ، ولكن النمو يكون ضعيفا وبطيئا ، حيث يطول عمر الجيل ويصل الى ١٠-٢٠ ساعة .

ورغم أن بكتريا التأزت معدنية التغذية إجبارا ، أى لاتستخدم المواد العضوية المضافة الى البيئة ، إلا أنه وجد أن بكتريا *Nitrobacter winogradskyi* لها القدرة على تمثيل الأسيتات الموجودة فى البيئة ، وذلك لبناء البروتين والبولى بيتا هيدروكسى بيوتيرات .

وتتم عملية التأزت تبعا للمعادلة العامة التالية

$$\underset{\text{Ammonia}}{NH_3} \longrightarrow \underset{\text{Hydroxylamine}}{NH_2OH} \longrightarrow (NOH) \longrightarrow \underset{\text{Nitrite}}{NO_2^-} \longrightarrow \underset{\text{Nitrate}}{NO_3^-}$$

والخطوة الأولى من هذا التفاعل تحتاج الى طاقة ، وتتم بمساعدة إنزيم Ammonium monooxygenase ، وتأتى ذرة الأكسجين الموجودة فى NH_2OH من الأكسجين الجزيئى . وتتم الخطوة الثانية بمساعدة انزيم Hydroxylamine oxidoreductase . وتنتقل الالكترونات فى حالة أكسدة النتريت الى سيتوكروم a_1 .

وتنتج الطاقة القابلة للاستخدام ، فقط من خطوات الأكسدة من الهيدروكسيل أمين الى نيتريت ، ومن أكسدة النتريت إلى نترات .

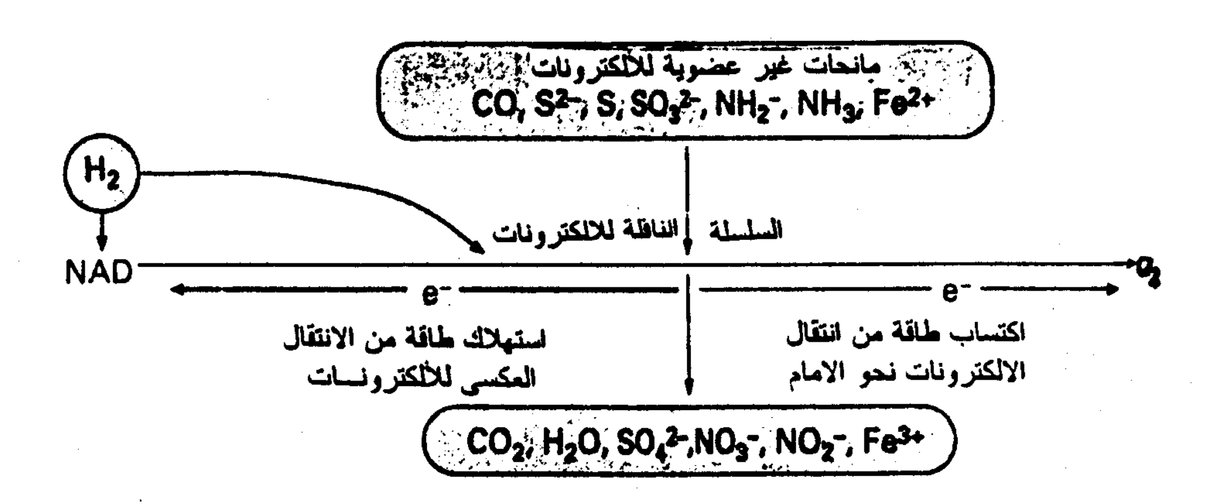
ويلاحظ أن عملية إنطلاق الأمونيوم فى التربة وسرعة تأكسده الى نترات تحت الظروف الهوائية ، يزيد من حموضة التربة ، وبالتالى يساعد على ذوبان المعادن مثل البوتاسيوم ، الكالسيوم ، الماغنسيوم ، الفوسفات . ولذلك تعتبر بكتريا التأزت عامل ذو تأثير معنوى على خصوبة التربة .

الإنتقال العكسى للألكترونات ومحصول الخلايا

Reverse electron transport and cell yield

تعتبر عملية أكسدة المواد غير العضوية مثل الأمونيوم ، النتريت ، ومركبات الكبريت أو الحديد ، بواسطة البكتريا الأوتوتروفية ، عملية غير ملائمة للخلية البكتيرية من ناحية اقتصاديات الطاقة ، حيث أن لهذه المواد جهد أكسدة وإختزال مرتفع الإيجابية ، إذ يصل الجهد الطبيعى (العادى) E_0 لنظام الأمونيوم/إيدروكسيد الأمونيوم إلى + ٨٨٩ ملليفولت ، ويصل فى نظام Fe^{3+}/Fe^{2+} إلى + ٧٧٠ ملليفولت ، بمقارنتهم بنظام $NAD^+/NADH_2$ التى تصل الى -٣٢٠ ملليفولت . ولذلك نجد أن أكسدة تلك المواد لايتزاوج مباشرة مع إختزال NAD^+ . ولكن يلعب NAD^+ المختزل دورا هاما فى إختزال CO_2 فى دورة ربيولوز ثنائى الفوسفات . وهناك من الأدلة مايثبت أن الالكترونات الناتجة من أكسدة المواد الغير عضوية ، تدخل فى السلسلة التنفسية عند مستوى السيتوكروم c أو a ، وفيها تكون الطاقة الناتجة منخفضة ، نتيجة لحدوث الفسفرة فى خطوة واحدة فى السلسلة التنفسية . ثم يستخدم جزء من هذه الطاقة لتوجيه الالكترونات للدخول عند مستوى السيتوكروم فى الإتجاه العكسى للسلسلة التنفسية الى مستوى نيوكليوتيدات البيريدين حيث يتم إختزالها .

وميكانيكية الإنتقال العكسى للإلكترونات مهمة لهذه البكتريا معدنية التغذية كيميائية الطاقة ، وذلك للحصول على القوة الاختزالية اللازمة لعمليات التخليق الحيوى ، كما يتضح من التخطيط التالى



إن الكميات الضئيلة من الطاقة المتحصل عليها عن طريق أكسدة المواد الغير عضوية السابقة الذكر ، تتوافق مع المحصول المنخفض Cell yield الناتج من الخلايا النامية ، حيث يستلزم تخليق واحد جرام خلايا وزن جاف ، الى استهلاك كميات أكبر بكثير من المواد الغير عضوية ، وذلك بمقارنتها بالبكتريا الأخرى الممثلة للمواد العضوية ، كما هو موضح بالجدول التالى [١٠ (٤)- ٣] .

جدول ١٠ (٤) – ٣ مقارنة مابين محصول الخلايا البكتيرية الذاتية والخليطة التغذية ، الناتجة من مصادر طاقة أولية .

يحتاج إنتاج واحد جرام خلايا جافة ، الى تحويل*					
خليطة التغذية			ذاتية التغذية		
Alcaligenes eutrophus	٠,٥ جم	H_2	*Nitrosomonas*	٣٠ جم	NH_3
Escherichia coli	٢,٠ جم جلوكوز		*Thiobacillus neapolitanus*	٣٠ جم	$S_2O_3^{2-}$
خميرة	١,٠ جم بترول		*Thiobacillus ferrooxidans*	١٥٦ جم	Fe^{2+}

*** Ref.: Schlegel, 1995.**

ومن هنا نجد أن العديد من هذه البكتريا ذاتية التغذية ، يقوم بأكسدة المواد غير العضوية السابق ذكرها للحصول على الطاقة ، بدون تخليق فى نفس الوقت للمادة الخلوية ، مما يفسر حدوث تفاعلات التأزوت فى التربة والماء ، بواسطة أعداد قليلة نسبياً من البكتريا .

أكسدة مركبات الكبريت المختزلة : Oxidation of reduced sulphur compounds

تتميز مجموعة من البكتريا السالبة لصبغة جرام ، سواء أكانت عصوية وحيدة السوط بالطرف مثل (*Thiobacillus*) ، أو حلزونية ثنائية الأسواط بالطرف مثل *Thiomicrospira* ، وأيضا الغير متحركة المحبة للحرارة العالية مثل (*Sulfolobus*) ، بقدرتها على أكسدة مركبات الكبريت المختزلة للحصول على الطاقة ، حسب التفاعلات التالية

$$S^{2-} + 2O_2 \rightarrow SO_4^{2-}$$
$$S + H_2O + 1\frac{1}{2} O_2 \rightarrow SO_4^{2-} + 2H^+$$
$$S_2O_3^{2-} + H_2O + 2\ O_2 \rightarrow 2SO_4^{2-} + 2H^+$$

ويبين الجدول [١٠ (٤) - ٤] قدرة العديد من هذه البكتريا على أكسدة مركبات مختزلة من الكبريت ، وتكوين الكبريتات كناتج نهائى .

جدول ١٠ (٤) - ٤ : البكتريا المؤكسدة للكبريت .

النوع البكتيرى	ق يد النمو	نوع التغذية التغذية	مانح الالكترونات
Thiobacillus thiooxidans	٢-٥	حتمى	S^{2-} , $S_2O_3^{2-}$, S
Thiobacillus ferrooxidans	٢-٦	اختيارى	Fe^{2+} , $S_2O_3^{2-}$, S
Thiobacillus thioparus	٦-٨	حتمى	CNS^-, $S_2O_3^{2-}$, S
Thiobacillus denitrificans	٦-٨	حتمى	CNS^-, $S_2O_3^{2-}$, S
Thiobacillus intermedius	٢-٦	اختيارى	$S_2O_3^{2-}$, S. glutamate
Thiobacillu novellus	٦-٨	اختيارى	$S_2O_3^{2-}$, S, glutamate
Thiomicrospira pelophila	٦-٨	حتمى	S^{2-} , $S_2O_3^{2-}$, S
Sulfolobus acidocaldarius	٢-٣	اختيارى	S, glutamate, peptone

ومعظم بكتريا *Thiobacillus* (*T. thiooxidans, T. thioparus, T. denitrificans*) معدنية التغذية كيميائية الطاقة إجباراً ، وتعتمد على تثبيت CO_2 كمصدر للكربون ، بينما هناك بكتريا أخرى تنمو على المركبات العضوية وتستخدمها كمصدر للكربون والطاقة مثل (*T. intermedius* و *T. novellus*) .

وتنتج *T. thiooxidans* كميات كبيرة من حامض الكبريتيك ، وهى بكتريا محبة للنمو فى وسط حامضى ، حيث تتحمل حامض كبريتيك عياريته ، واحد عيارى .

ويضاف الكبريت المعدنى للتربة لإزالة القلوية من الأراضى الطباشيرية Chalky soils ، حيث يقوم حامض الكبريتيك الناتج بواسطة *Thiobacillus* ، بتحويل كربونات الكالسيوم الى كبريتات كالسيوم الأكثر ذوباناً ، وتستخدم *T. denitrificans* النترات كمستقبل للايدروجين ، حيث يتم التنفس اللاهوائى وتقوم بعملية الدنترة .

أمــــا بكتريــــا *Sulfolobus acidocaldarius & Caldariella acidophila* فإنها تتبع مجموعة الأركيوباكتريا ، وتتواجد فى الينابيع الساخنة الحامضية Acid hot springs، وخصوصاً البركانية التى يحدث بها أكسدة لكبريتيد الايدروجين .

وبكتريا *S. acidocaldarius* [جدول ١٠ (٤) - ٤] محبة للحرارة العالية ، معدنيــــة التغذيــــة ، كيميائية الطاقة إختياراً ، حيث تؤكسد الكبريت المعدنى الى حامض كبريتيك وتعطى نمواً أمثـــلاً عند درجة ق يد ٢-٣ ، وعلى درجات حرارة تتراوح مــــابين ٧٠ - ٧٥°م ، كمــــا يمكنــــها أن تتحمل حرارة حتى ٩٠°م .

مسارات التفاعل فى أكسدة مركبات الكبريت

Reaction pathways in the oxidation of sulphur compounds

قد يتم أكسدة كبريتيد الايدروجين بالإضافة الى الكبريت الموجود فى المحلول المــــائى ، بطرق غير بيولوجية ولو بنسبة قليلة ، وعموماً فان الرسم التخطيطى بالشـــــكل [١٠ (٤) - ١] يوضح أهم التفاعلات البيولوجية الخاصة بأكسدة مركبات الكبريت .

ومن المفترض أن الالكترونات الناتجة من أكسدة الكبريتيت الــــى كبريتــــات ، تدخــــل السلســـلة التنفســـية عنـــد مســـتوى ســـيتوكروم c ، كمــــا أن بعـــض بكتريــــا *Thiobacillus* (*T. thioparus* و *T. denitrificans*) ، يمكنها أن تستخدم الطاقة الميسرة الناتجة مــــن أكســـدة الكبريتيت الى كبريتات فى إحداث فســـفرة عنـــد مســـتوى مــــادة التفــــاعل Substrate level phosphorylation شكل [١٠ (٤) - ١ : خطوات ٥ و ٦] .

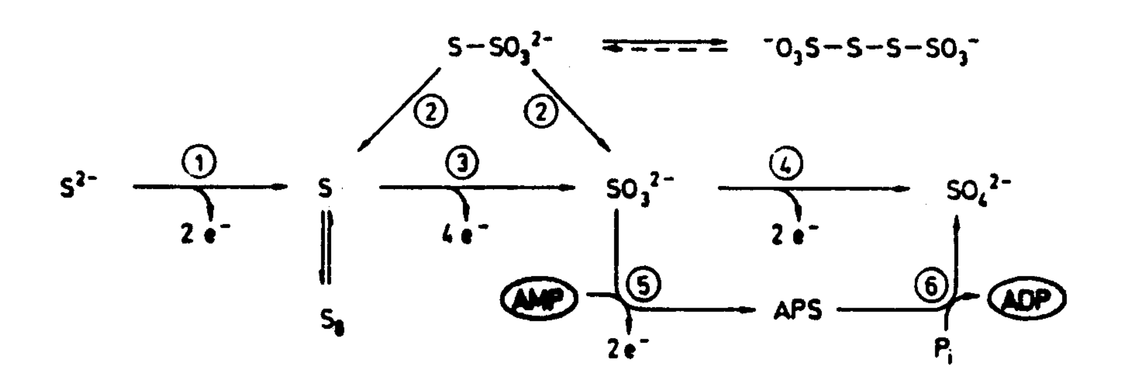
$$(1)\ SO_3^{2-} + AMP \xrightarrow{\text{APS reductase}} APS^{*} + 2e^-$$

$$(2)\ APS + P \xrightarrow{\text{ADP sulfurylase}} ADP + SO_4^{2-}$$

$$(3)\ 2ADP \xrightarrow{\text{adenylate kinase}} ATP + AMP$$

---

* APS : Adinosine-5-phosphosulphate



شكل ١٠ (٤) - ١ : أهم التفاعلات الخاصة بأكسدة مركبات الكبريت ، بواسطة البكتريا المؤكسدة للكبريت

تفاعلات ①، ② فى عكس الاتجاه الخاص باختزال الكبريتات الهدمى ، راجع شكل [١٠ (٣) - ٣] .

S_8 : ترمز S_8 الى الكبريت الأصفر الذى يوجد فى حلقة ثمانية الأضلاع Eight-membered ring ، وهو مركب قابل للذوبان فى الماء بدرجة متوسطة .

والانزيمات المشاركة

① Sulphide oxidase
② Thiosulphate-cleaving enzymes (Rhodanase)
③ Sulphur-oxidising enzyme (Sulphur oxidase)
④ Sulphite oxidase
⑤ APS reductase
⑥ ADP sulphurylase (Sulphate adenlyl transferase)

بكتريا الكبريت الخيطية وغيرها من بكتريا الكبريت

Filamentous & other sulphur bacteria

يتواجد فى قاع البرك والمستنقعات أو الأماكن التى يتحرك فيها الماء ببطء ، حيث يتكون كبريتيد الايدروجين ، يتواجد كل من بكتريا الكبريت الخيطية عديمة اللون مثل *Beggiatoa, Thiothrix, Thioploca* ، وأخرى كبيرة الحجم وحيدة الخلية مثل *Thiovulum* و *Achromatium oxaliferum* . والى الآن لم يتم الحصول على أى من هذه البكتريا الكبيرة الحجم فى مزرعة نقية ، ويرجع ذلك الى أنها ذات احتياجات غذائية خاصة للنمو ، حيث تحتاج الى كبريتيد الايدروجين فى نفس وقت إحتياجها للأكسجين بكمية قليلة جداً .

كبريتيد الايدروجين كأساس لنظام بيئى عديم الاضاءة

Hydrogen sulphide as the basis for an ecosystem without light

تعتمد حياة جميع الكائنات الراقية خليطة التغذية ، كما هو معروف ، على الكتلة الحيوية الناتجة من الكائنات الممثلة للضوء ، ومع ذلك ، فقد أكتشف منذ عدة سنوات استثناء لهذه القاعدة .

ففى قاع البحار حيث لاينفذ الضوء وترتفع الحرارة فى بعض الأماكن ، وكذلك فى ينابيع المياه الساخنة التى تحتوى على كثير من المعادن و H_2S ، وجدت أنواع بكتيرية مؤكسدة للكبريت . ويتغذى على هذه البكتريا النامية أنواع من الديدان ، مثل دودة *Riftia pachyptila* التابعة لمجموعة Pogonophora ، وهذه الديدان مهيأة تماما للنمو فى هذا الوسط البيئى . وتتميز هذه الديدان بعدم إحتوائها على فتحة للفم أو للشرج ، ولكن تمتلك جسيمات تغذية تسمى Trophosomes ، وفى هذه الجسيمات تنمو البكتريا المؤكسدة لكبريتيد الايدروجين كمتكافلة داخليا Endosymbionts بالدودة . ومن هنا نجد أنه فى مياه تلك الينابيع الساخنة وفى قاع المحيطات ، يوجد نظام بينى لايعتمد النمو فيه على نواتج الكائنات الممثلة للضوء ، ولكن يعتمد على نواتج تغذية الكائنات ذاتية التغذية كيميائية الطاقة ، مما يشكل أساسا لنظام بيئى لايعتمد على الإضاءة .

أكسدة الحديدوز : Oxidation of ferrous iron (Fe^{2+})

تستطيع بكتريا الحديد *Thiobacillus ferrooxidans* أكسدة الحديدوز الى حديديك ، حسب المعادلة

$$4Fe^{2+} + 4H^{+} + O_2 \longrightarrow 4Fe^{3+} + 2H_2O$$

وهذه البكتريا تتشابه مع *T. thiooxidans* فى تحملها لـ pH ٢,٥ ، ولكن تتميز عنها بقدرتها على الحصول على الطاقة ليس فقط من أكسدة مركبات الكبريت المختزلة ، ولكن أيضا من أكسدة أيونات الحديدوز ، وتقطن هذه البكتريا فى المياه الحامضية كمناجم صخور الحديد ، التى تحتوى على كبريتيد المعادن ، بالإضافة الى حديد البايريت Pyrite ، FeS_2 .

وتوجد سلالات بكتيرية محبة للحرارة المرتفعة تقوم بأكسدة الحديد والكبريت ، تابعة لجنس *Thiobacillus* ، كما يوجد سلالات محبة للحرارة المرتفعة أيضا مثل *Sulfolobus acidocaldarius* يمكنها أكسدة أيونات الحديدوز الى حديديك .

كما عزلت بكتريا *Stibiobacter senarmontii* من أراضى محتوية على الأنتيمون Antimony , Sb ، قادرة على أكسدة Sb^{3+} الى Sb^{5+} .

غسيل ركاز المعادن (المعدن الخام)* : Leaching of ores

تتميز بعض البكتريا المحبة للحموضة المؤكسدة للحديد والكبريت ، بقدرتها على تحويل ركاز الكبريتيد (المحتوى على الحديد والكبريت بالإضافة إلى كبريتيد المعادن الأخرى) ، الى أملاح معادن على هيئة كبريتات قابلة للذوبان فى الماء ، ولذلك تستخدم هذه البكتريا فى عملية غسيل الركاز (خام المعادن) ، خاصة فى المناجم العميقة وفى كومات خبث المعادن ، لاستخلاص مابتلك الصخور من معادن مثل النحاس ، النيكل ، الزنك ، المولبدنيوم ، اليورانيوم.

وتتم هذه العملية بدفع الماء فى أعمدة ، تحتوى على ركاز صخور المعادن السابق تكسيرها إلى أجزاء صغيرة ، [على سبيل المثال البايريت FeS_2 ومعادن الكبريتيد المصاحبة له (مثل $CuS, Cu_2S, MoS_2, NiS, PbS, Sb_2S_3$ & ZnS و CoS) ، ثم يجمع محلول الكبريتات من هذه الأعمدة ، وبعمليات التركيز والترسيب ، يتم الحصول على المعادن المختلفة، وذلك نتيجة لفعل البكتريا المؤكسدة للكبريت والحديد .

---

* المقصود بالركاز Ore ، المعدن الخام فى حالته الطبيعية ، والركاز ذو قيمة اقتصادية لاحتوائه على مواد نافعة .

والمعادلات التالية ، تبين التفاعلات التى تتم نتيجة لنشاط تلك البكتريا

(1) $FeS_2 + 3\frac{1}{2}O_2 + H_2O \rightarrow FeSO_4 + H_2SO_4$

(2) $S + 1\frac{1}{2}O_2 + H_2O \rightarrow H_2SO_4$

(3) $2FeSO_4 + \frac{1}{2}\ O_2 + H_2SO_4 \rightarrow Fe_2\ (SO_4)_3 + H_2O$

(4) $MoS + 2Fe^{3+} \rightarrow Mo^{2+} + 2Fe^{2+} + S$

ومن أكفأ السلالات البكتيرية استخداماً فى عملية غسيل ركاز المعادن ، *Thiobacillus thiooxidans, T. ferrooxidans & Sulfolobus* ، حيث تتميز بتحملها لتركيزات عالية من Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} ، وغيرها من أيونات المعادن الثقيلة .

ومن بكتريا الحديد الأخرى (*Gallionella ferruginea & Leptothrix ochraceae*) ، وهى تتميز بقدرتها الفائقة على استخلاص الحديد ، وقد تم عزلها من الجبال المغطاة بأكاسيد الحديد ، وكذلك بكتريا *Leptothrix discophora* والتى لها القدرة أيضا على أكسدة Mn^{2+} إلى Mn^{4+} فى حالة إحتياجها للطاقة المنطلقة من هذا التفاعل أثناء عملية الايض الغذائى ، وجدير بالذكر أن كل هذه البكتريا أوتوتروفية التغذية Lithoautotrophs .

أكسدة الايدروجين الجزيئى (بالبكتريا اللاهوائية) : Oxidation of molecular hydrogen

ينتج الايدروجين أثناء عملية تحلل المادة العضوية تحت ظروف لاهوائية فى التربة ، وتتميز كثير من البكتريا بقدرتها على استخدام الايدروجين الناتج ، ويتم الايض الغذائى لجزء كبير من هذا الايدروجين ، عن طريق البكتريا المصاحبة للبكتريا المخمرة والمنتجة للايدروجين ، حيث يتم أكسدة الايدروجين مع إختزال الكبريتات الى كبريتيد ، أو اختزال ثانى أكسيد الكربون الى ميثان .

وينتج الايدروجين أيضا فى الأوساط البيئية جيدة التهوية ، فعلى سبيل المثال ، ففى الأراضى التى تزرع بالنباتات البقولية (فول الصويا ، الفول البلدى ، البرسيم) ، فان H_2 ينفذ من العقد البكتيرية الموجودة على الجذور فى طور البكتيرويد نتيجة نشاط إنزيم النيتروجينيز ، وهناك بعض المجاميع البكتيرية التى يمكنها توليد ATP بالفسفرة عن طريق انتقال الالكترونات Electron transport phosphorylation تحت الظروف اللاهوائية (تنفس لاهوائى) ، مع استخدام الايدروجين الجزيئى كمانح للايدروجين .

والجدول التالى [١٠ (٤) – ٥] يبين البكتريا اللاهوائية ذاتية التغذية كيميائية الطاقة المؤكسدة للايدروجين .

جدول ١٠ (٤) - ٥ : بكتريا لاهوائية مؤكسدة للايدروجين الجزيئى .

مانحات الالكترونات والنواتج المختزلة			المجاميع البكتيرية	أنواع بكتيرية ممثلة
CH_4	$\xleftarrow{CO_2}$	H_2	منتجة للميثان (تنفس كربوناتى)	*Methanobacterium thermoautotrophicum*
$CH_3\text{-}COOH$	$\xleftarrow{CO_2}$	H_2	منتجة للأسيتات (تنفس كربوناتى)	*Acetobacterium woodii*
H_2S	$\xleftarrow{SO_4^{2-}}$	H_2	منتجة للكبريتيد (تنفس كبريتاتى)	*Desulfovibrio desulfuricans*
H_2S	$\xleftarrow{S^0}$	H_2	منتجة للكبريتيد (تنفس كبريتى)	*Desulfomonas acetoxidans*
N_2	$\xleftarrow{NO_3^-}$	H_2	منتجة للنتروجين (تنفس نتراتى)	*Paracoccus denitrificans*
N_2	$\xleftarrow{NO_3^-}$	CO	منتجة للنتروجين (تنفس نتراتى)	*Pseudomonas carboxydovorans*
H_2S	$\xleftarrow{SO_4^{2-}}$	CO	منتجة للكبريتيد (تنفس كبريتاتى)	*Desulfobacterium autotrophicum*

أكسدة الايدروجين (بالبكتريا الهوائية)

تتميز هذه المجموعة من البكتريا بأكسدتها للايدروجين فى وجود الأكسجين ، حيث يعمل الأكسجين كمستقبل نهائى للالكترونات . ومعظم هذه البكتريا قادرة على تثبيت CO_2 ، فهى أوتوتروفية التغذية ، ومن جهة أخرى فان لها القدرة أيضاً على استخدام المواد العضوية ، ولذلك تعتبر هذه البكتريا معدنية التغذية كيميائية الطاقة إختياراً Facultative chemolithotrophs . وقليل من البكتريا المؤكسدة للايدروجين ، يمكنها أكسدة أول أكسيد الكربون واستخدامه كمصدر وحيد للكربون وأيضاً كمانح للالكترونات .

وتتمثل أغلب أنواع البكتريا المؤكسدة للإيدروجين ، فى الأجناس السالبة لصبغة جرام مثل *Alcaligenes, Aquaspirillum, Paracoccus, Pseudomonas, Xanthobacter* ، بينما يتبع قلة منها ، الأجناس الموجبة لصبغة جرام ، مثل *Bacillus, Mycobacterium, Nocardia* .

ويدخل الايدروجين الى الخلايا البكتيرية المؤكسدة للايدروجين هوائيا ، عن طريق نوعين من الهيدروجينيز ، أحدهما يوجد ذائباً فى السيتوبلازم الخلوى ، بينما يوجد الثانى مرتبطا بالغشاء السيتوبلازمى للخلية . وتمتلك القليل من البكتريا مثل *A. hydrogenophilus* و *Alcaligenes eutrophus* النوعين السابقين من الانزيمات . بينما تحتوى *Nocardia* على الانزيم الذائب فقط ، وتحتوى الأغلبية العظمى من البكتريا على الانزيم المرتبط بالسيتوبلازم . وكلا النوعين من الانزيمات لهما القدرة على إدخال الايدروجين فى السلسلة التنفسية .

ويوضح جدول [١٠ (٤) - ٦] بعض أنواع البكتريا الهوائية المؤكسدة للايدروجين .

جدول ١٠ (٤) - ٦ : بكتريا هوائية مؤكسدة للايدروجين .

الانواع البكتيرية	الصبغ بجرام	تثبيت النتروجين	إنزيم الهيدروجينيز: مرتبط بغشاء الخلية	إنزيم الهيدروجينيز: ذائب
Alcaligenes eutrophus	-	-	+	+
Aquaspirillum autotrophicum	-	-	+	-
Paracoccus denitrificans	-	-	+	-
Pseudomonas carboxydoflava	-	-	+	-
Pseudomonas carboxydovorans	-	-	+	-
Pseudomonas facilis	-	-	+	-
Pseudomonas pseudoflava	-	-	+	-
Pseudomonas saccharophila	-	-	+	-
Xanthobacter autotrophicus	-	+	+	-
Nocardia opaca	+	-	-	+
Mycobacterium gordonae	+	-	+	-
Bacillus sp.	+	-	+	-

أكسدة أول أكسيد الكربون الى ثانى أكسيد كربون : CO oxidation to CO_2

يوجد غاز CO فى الطبيعة تحت الظروف الهوائية واللاهوائية ، وهو غاز سام لكل الكائنات بما فى ذلك الانسان ، ورغم أن غاز CO يصل إلى الهواء بكميات كبيرة من مصادر متعددة أهمها نواتج الاحتراق ، إلا أن نسبته بالجو تقريبا شبه ثابتة ، فهى تتراوح مابين ٠,١ الى ٠,٣ جزء فى المليون . ويعود ثبات نسبه CO بالجو ، الى التحولات البيولوجية التى تقوم بها البكتريا أساسا قرب سطح الأرض ، وذلك بأكسدة أول أكسيد الكربون الى ثانى أكسيد الكربون .

إضافة إلى ذلك فإن هناك أنواع من البكتريا الهوائية ، قادرة على استخدام CO كمصدر وحيد للكربون ، وكمصدر وحيد للطاقة مانح للالكترونات ، من هذه البكتريا *Pseudomonas carboxydohydrogena* ، وتقوم هذه البكتريا بالتفاعل التالى

$$7\,CO + 2\tfrac{1}{2}\,O_2 + H_2O \longrightarrow HCHO + 6\,CO_2$$

تقوم هذه البكتريا بأكسدة CO الى CO_2 بإنزيم Oxido-reductase وهو من نوع الـــ FAD ، ويتم تثبيت CO_2 الناتج من خلال دورة ريبلوز داى فوسفات .

وتسمى البكتريا المستخدمة لأول أكسيد الكربون Carboxydobacteria ، وهى تمتلك انزيم هيدروجينيز مرتبط بغشائها الخلوى ، ولذلك فهى تستطيع أيضا أن تنمو كبكتريا مؤكسدة للايدروجين .

أسلوب التغذية الهتيروتروفية (الخليطة) والتغذية الميكسوتروفية (المتنوعة)
Heterotrophic and mixotrophic modes of nutrition

يتم الايض الهدمى للهكسوزات والجلوكونات ، بواسطة العديد من بكتريا الايدروجين عبر مسار Enter-Doudoroff ، حيث يتم أكسدة مادة التفاعل الى ثانى أكسيد الكربون والماء ، كما يمكن لهذه البكتريا استخدام أنواع عديدة من المركبات العضوية ، مثل الأحماض الدهنية ذات السلاسل المتفرعة ، والمركبات الحلقية ، والتستوستيرون Testosterone . وأيضا قد تخزن هذه البكتريا بخلاياها بعض المواد المخزنة ، مثل بولى بيتا هيدروكسى بيوتيرات والجليكوجين.

وقد تقوم بعض أنواع بكتريا الايدروجين بنظام التغذية المتنوعة Mixotrophic ، ففى حالة وجود كل من المواد الغير عضوية (H_2 و CO_2) فى نفس وقت وجود المواد العضوية ، فاننا نجد أن هذه البكتريا تعمل كبكتريا خليطة التغذية ، باستخدامها كربون المادة العضوية لبناء مادتها الخلوية ، وتعمل فى نفس الوقت كبكتريا ذاتية التغذية ، من حيث حصولها على الطاقة اللازمة لعملية التخليق الحيوى من أكسدة الايدروجين ، ومن مواد مانحة للالكترونات . وفى هذه الحالة فان الحاجة لاتدعو لحدوث أكسدة كاملة للمواد العضوية .

هذا النوع من التغذية المتنوعة يوجد فى العديد من الكائنات الاوتوتروفية إختياراً ، حيث تحصل هذه البكتريا على الطاقة اللازمة لها من أكسدة مركبات مختزلة ، مثل H_2S والكبريت وذلك فى بكتريا الكبريت ، أو بالتمثيل الضوئى كما فى الطحالب الخضراء والنباتات .

وتتميز بعض البكتريا المؤكسدة للايدروجين ، باستخدام مادة التفاعل تحت شروط تنظيم محكمة . فعلى سبيل المثال ، عند تنمية خلايا *Alcaligenes eutrophus* التى لاتحتوى على الانزيمات الخاصة بتمثيل الفركتوز ، فى بيئة تحتوى على الفركتوز ومحضنة تحت ظروف هوائية ، فاننا سنجد أن هذه الخلايا تخلق الانزيمات اللازمة لمسار Entner-Doudoroff ، وبذلك تستطيع النمو .

ومن جهة أخرى ، فانه لو تم تحضين تلك البكتريا تحت ظروف تحتوى على خليط من ٨٠% H_2 و ٢٠% CO_2 ، فاننا سنلاحظ عدم نمو الخلايا، لعدم قدرتها على تخليق الانزيمات اللازمة للأيض ، ومن هنا يبدو ، أن H_2 يكبح تكون الانزيمات اللازمة لتمثيل الفركتوز .

واذا أعيدت التجربة باستخدام خلايا تحتوى على الانزيمات الخاصة بتمثيل الفركتوز ، بالإضافة إلى وجود الهيدروجينيز والتحضين فى وجود خليط من H_2 و O_2 ، فاننا سنلاحظ حدوث هدم للفركتوز ولكن بمعدل بسيط ، حيث يعمل هذا الخليط ، على تثبيط عمل إنزيم Glucose-6-phosphate dehydrogenase وبالتالى يعمل على تثبيط هدم الفركتوز .

ويجب أن نشير الى أن إنزيم Glucose 6-phosphate dehydrogenase الذى يعتبر الانزيم المنظم Regulatory enzyme لمسار دورة Entner-Doudoroff ، يشابه فى وظيفته إنزيم Phosphofructokinase فى مسار دورة الفركتوز داى فوسفات .

«الباب العاشر - الفصل الخامس»
تثبيت ثانى أكسيد الكربون

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة

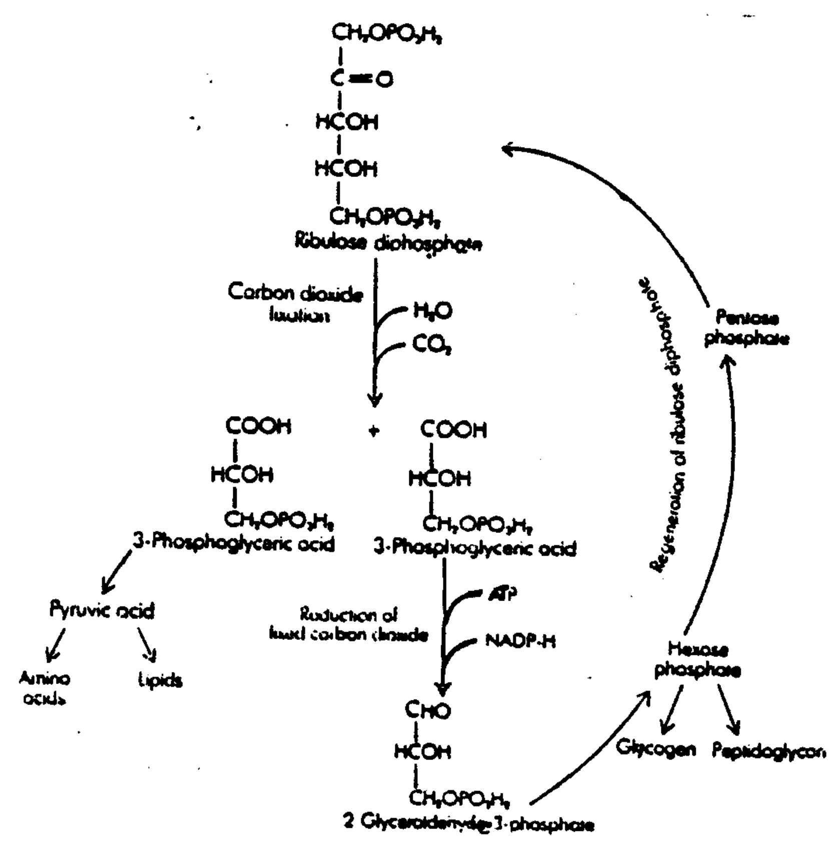
﴿الباب العاشر - الفصل الخامس﴾

تثبيت ثانى أكسيد الكربون
Carbon dioxide fixation

دورة الريبلوز ثنائى الفوسفات (دورة كالفن - بشام)

تقوم معظم الكائنات الحية التى تستخدم ثانى أكسيد الكربون كمصدر وحيد للكربون ، بعملية تثبيت CO_2 خلال دورة الريبلوز ثنائى (داى) الفوسفات Ribulose-diphosphate cycle ، أو مايسمى بدورة كالفن - بشام (Calvin-Bassham cycle) ، [شكل ١٠ (٥) - ١] ، ويقوم بهذه الدورة البكتريا الهوائية كيميائية التغذية ، ومعظم أنواع البكتريا الضوئية، وكذلك السيانوباكتريا، والنباتات الخضراء .

وتنفرد هذه الدورة عن غيرها من الدورات بوجود إنزيمين ألا وهما (١) Ribulose-diphosphate carboxylase و (٢) Phosphoribulokinase ، ويمثل الانزيم رقم (١) أكثر أنواع البروتينات السائدة كمياً فى كوكبنا الأرضى .



شكل ١٠ (٥) - ١ : دورة ريبلوز ثنائى (داى) الفوسفات لتثبيت ثانى أكسيد الكربون فى الكائنات ذاتية التغذية
وتسمى الدورة أيضا باسم دورة كالفن - بشام ، نسبة الى أسماء العلماء الذين ساهموا فى إيضاح الدورة .
أو تسمى بدورة كالفن (للإختصار) .

مراحل دورة كالفن - بشام

يمكن تمييز ثلاث مراحل فى دورة كالفن - بشام ، هى

(١) تفاعل إضافة مجموعة الكربوكسيل Carboxylation reaction .

(٢) تفاعل الاختزال Reduction reaction .

(٣) التفاعلات الخاصة بإعادة تخليق Regeneration مستقبل جزىء CO_2 .

تفاعل إضافة مجموعة الكربوكسيل : The carboxylation reaction

يتحول ريبلوز - ١ ، ٥ - داى فوسفات بعد إتحاده مع CO_2 فى وجود انزيم Ribulose-diphosphate carboxylase الى جزئين من ٣-فوسفوجلسرات ، كما هو موضح فيما يلى

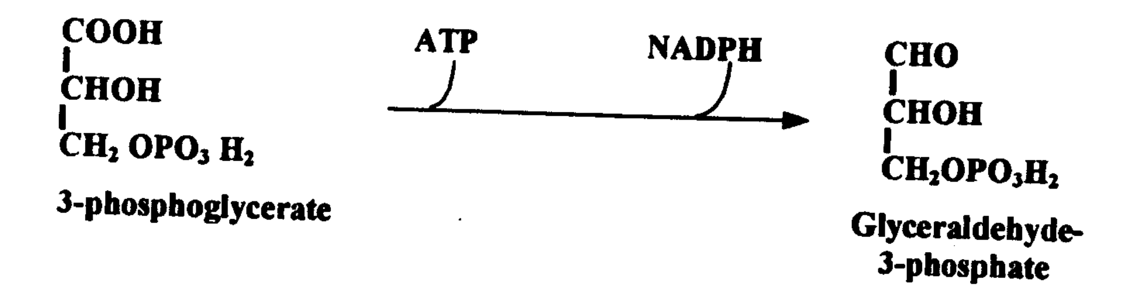
Ribulose-diphosphate carboxylase

وفى حالة غياب CO_2 ووجود الأكسجين ، يتأكسد ريبلوز داى فوسفات ، بإنزيم Ribulose diphosphate carboxylase / oxygenase ويتكون فوسفوجليكولات Phosphoglycolate و ٣ - فوسفوجلسرات ، ويشارك هذا التفاعل فى تكوين الجليكولات فى النباتات الخضراء وفى البكتريا الاوتوتروفية ، ومن ثم فى عملية التنفس الضوئى Light respiration ، كما هو موضح فيما يلى

Ribulose-diphosphate Carboxylase/Oxygenase

تفاعل الاختزال : The reduction reaction

يعقب تفاعل الكربكسلة السابق ، حدوث إختزال لمجموعة الكربوكسى الموجـوده فـى ٣-فوسفوجلسرات ، حيث تتحول الى مجموعة الدهيد ، ويتكون جلسرالدهيد-٣-فوسفات



وخطوة اختزال ٣- فوسفوجلسرات إلى الدهيد ، فى دورة تثبيت CO_2 ، هى الخطـوة التى تحتاج الى طاقة والى قوة إختزالية ، بينما باقى الخطوات التالية من خطوات الدورة ، فإنـها تستمر عند مستوى من الطاقة ، ثابت تقريباً .

وفى خطوة الاختزال السابقة ، تحدث تفاعلات مشابهة لتلك التـى تحـدث فـى دورة فركتوز داى فوسفات ، مثل حدوث فسفرة مـن ATP بـإنزيم 3-phosphoglycerate kinase واختزال من NADPH بـإنزيم Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase والتفـاعل الأخير متخصص لـ NADH فى البكتريا ، ولـ NADPH فى النباتات .

التفاعلات الخاصة بإعادة تخليق مستقبل جزىء CO_2

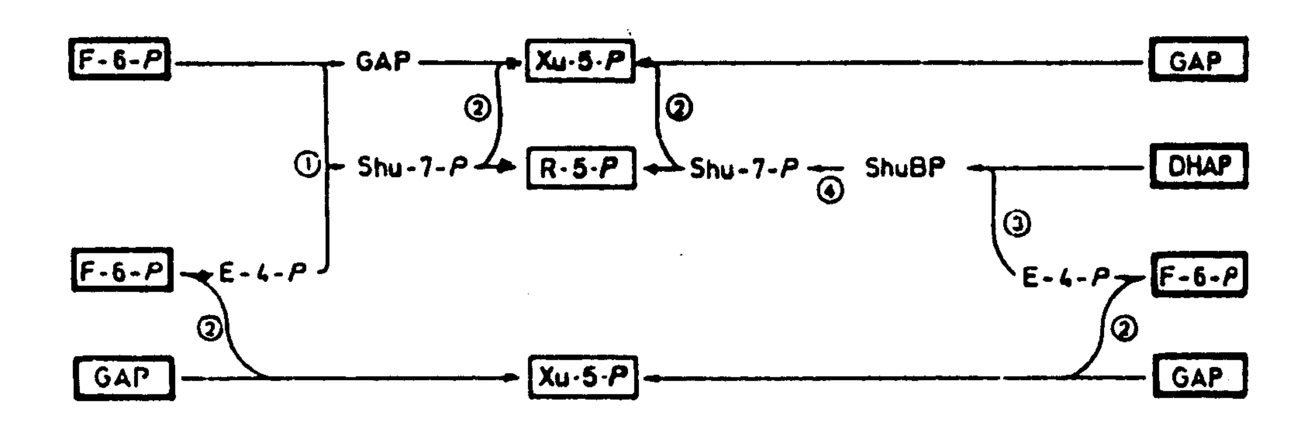
Regeneration of the CO_2-acceptor molecule

يحدث توازن بين جلسرالدهيد-٣-فوسفات ، وداى هيدروكسى أسيتون فوسفات بمساعدة انزيم ترايوزفوسفات ايسومريز Triose-phosphate isomerase . ويعاد تكوين الفركتوز -١ ، ٦- داى فوسفات بإتحاد جلسرالدهيد-٣- فوسفات وداى هيدروكسى أسيتون فوسفات بمساعدة انزيم Fructose diphosphae aldolase . يتحول الفركتوز - ١ ، ٦- داى فوسفات بنزع مجموعة الفوسفات منه ، الى فركتوز -٦-فوسفات بمساعدة إنزيم Fructose phosphatase ، ويتم إتحاد جزىء واحد من فركتوز -٦-فوسفات و ٣ جزيئات من ترايوز فوسفات لينتج ٣ جزىء ريبلوز -٥- فوسفات ، وذلك بمساعدة بعض الانزيمات الموجودة فى دورة فوسفات البنتوز التأكسدية Oxidative pentose phosphate cycle ، وتبدأ سلسلة التفاعل بانزيم Transketolase ، الذى يعمل على تحويل مجموعة الجليكول الموجودة فى Ketomonophosphate الى Aldose-phosphate [شكل ١٠ (٥) - ٢] .

وبإتحاد جلسرالدهيد -٣-فوسفات مع فركتوز-٦-فوسفات فى وجود انزيم Transketolase ، ينتج ارثروز-٤-فوسفات ، ويتحد الأخير مع جلسرالدهيد -٣- فوسفات فى وجود Aldolase ، وينتج Sedoheptulose - 1,7 - diphosphate ، الذى يتم نزع مجموعة الفوسفات منه ، من ذرة الكربون رقم واحد ، ويتكون Sedoheptulose-7-phosphate ، وهو تفاعل عكسى ، ويحدث تفاعل إنشقاقى للمركب الأخير بمساعدة انزيم Transketolase وينتج رايبوز -٥-فوسفات ، وزايليلوز ٥-فوسفات فى حالة إتزان انزيمى مع ريبلوز -٥- فوسفات ، وبفسفرة المركب الأخير فى وجود ATP ينتج ريبلوز -١ ، ٥- داى فوسفات بمساعدة انزيم Phosphoribulokinase .

وإعادة التخليق الضوئى لمركب ريبلوز -٥- فوسفات ، تحدث فى النبات من خلال Sedoheptulose -1,7-diphosphate والممثلة فى الجانب الأيمن من الشكل [١٠ (٥) - ٢] ، بينما يحدث تخليق مركبات الفوسفات الخماسية Pentose phosphate compounds فى الظلام ، عبر تفاعل Transaldolase مباشرة الى Sedoheptulose -7-phosphate والممثلة فى الجانب الأيسر من الشكل [١٠ (٥) -٢] ، حيث أثبت كالفن سنة ١٩٦٢ أن تثبيت CO_2 ليس مرتبطاً بتفاعل الضوء فقط ، والدليل على ذلك تفاعل الظلام ، الذى يحدث لتثبيت CO_2 اذا توفر ATP اللازم .

ويمكن توضيح تلك المعادلة بالشكل [١٠ (٥) -٢] التخطيطى التالى



شكل ١٠ (٥) - ٢ : شكل تخطيطى يوضح احتمالى تخليق بنتوز الفوسفات من ترايوز فوسفات ، ومـن فركتوز -٦- فوسفات .

F-6-P : Fructose-6-phosphate
GAP : Glyceraldehyde-3-phosphate
E-4-P : Erythrose-4-phosphate
Shu-7-P : Sedoheptulose-7-phosphate
Xu-5-P : Xylulose-5-phosphate
R-5-P : Ribose-5-phosphate
Shu BP : Sedoheptulose-1,7-diphosphate
DHAP : Dihydroxyacetone-phosphate

الأنزيمات المشاركة

① Transaldolase
② Transketolase
③ Fructose diphosphate aldolase
④ Fructose diphosphatase

يلخص الجانب الأيسر من الشكل خطوات التفاعل التى تشمل تخليق بنتوزات الحامض النـووى (Ribose & Desoxyribose) ، حيث يلعب Transaldolase دوراً هاماً .

بينما يلخص الجانب الأيمن من الشكل خطوات التفاعل التى تعمل على اعادة تخليق مستقبل ثانى أكسـيد الكربـون (ريبلـوز-١، ٥-داى فوسـفات) ، ويشـارك فـى هـذا التفـاعل Aldolase & Sedoheptulose -1, 7- diphosphate ، وليس Transaldolase .

وتعتبر فسفرة رايبوز -٥- فوسفات بواسطة ATP لتكويـن ريبلـوز -١ ، ٥ - داى فوسفات بواسطة انزيم Phosphoribulose kinase آخر خطوة فى دورة ريبلوز داى فوسفات .

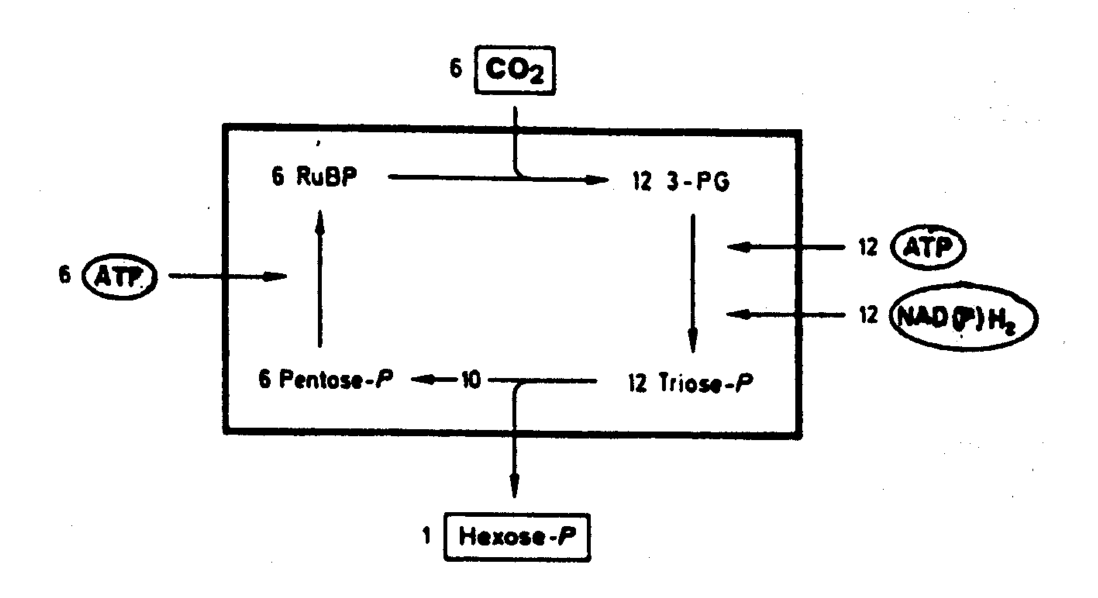
ميزان التفاعل بالدورة : Balance sheet of the ribose diphosphate cycle

لتخليق ١ مول من الهكسوز، من ٦ مول CO_2 ، فان ذلك يحتاج الى تكرار دورة الريبلوز داى فوسفات ستة مرات ، ويوضح ذلك فى المعادلة العامة التالية

$$6\ CO_2 + 18\ ATP + 12\ NADPH_2 \longrightarrow F\text{-}6\text{-}P^* + 18\ ADP + 12\ NADP + 17\ Pi$$

(F-6-P* : فركتوز -٦- فوسفات)

ويمكن توضيح تلك المعادلة بالشكل التخطيطى التالى



RuBP : Ribulose diphosphate
3-PG : 3-phosphoglyceraldehyde

أهمية دورة كالفن - بشام

ترجع أهمية دورة كالفن ، الى الدور الهام الذى تلعبه المركبات الوسطية الناتجة فى هذه الدورة ، كمواد ممهدة Precursors ، لتكوين المركبات اللازمة لتخليق مادة الخلية .

فمثلاً ، يمهد ٣-فوسفوجلسرات ، لتكوين البيروفات

ويمهد اسيتايل CoA وأرثروز - ٤- فوسفات لتكوين الأحماض الأمينية الاروماتية

ويمهد رايبوز-٥-فوسفات ، لتخليق الأحماض النووية

ويعتبر الهكسوز فوسفات ، مادة ممهدة لتكوين البوليمرات المختلفة .

المسارات الأخرى لتثبيت CO_2 أوتوتروفيا

Other pathways of autotrophic CO_2 fixation

على الرغم من أن تثبيت CO_2 الذى يتم عبر دورة ربيلـــوز داى فوســفات ، يعتــبر المسار الرئيسى لتخليق المركبات العضوية من ثانى أكسيد الكربون الموجود فى الغلاف الجوى، إلا أنه توجد مسارات أخرى [جدول ١٠ (٥) - ١] خاصة بعملية تثبيت CO_2 .

فنجد أن البكتريا اللاهوائية الاوتوتروفية تمتلك مسارين لتثبيـــت CO_2 ، كمــا تقــوم البكتريا المنتجة للميثان Methanogens ، والبكتريا المنتجة للاسيتات Acetogens ، والمنتجـــة للكبريتيد (Sulphidogens) باختزال الكبريتات ، وتقوم باســتخدام الايدروجيــن أو أول أكســيد الكربون كمانح للايدروجين مع إختزال CO_2 بواسطة Acetyl CoA تحت الظروف اللاهوائية ، وانتاج اسيتايل CoA وبيروفات ، ويدخل بعد ذلك البيروفات فى المسارات الايضية الوسطية .

وتقوم بكتريا الكبريت الخضـــــراء *Chlorobium thiosulfatophilum* بتثبيــت CO_2 ، عــبر تفاعلات دورة TCA cycle ، من خلال عملية كربكسله إختزالية Reductive carboxylation ، لمركب Succinyl CoA .

جدول ١٠ (٥) - ١ : المسارات الثلاثة لتثبيت CO_2 بواسطة البكتريا الاوتوتروفية .

دورة كالفن	دورة TCA الاختزالية	مسار اسيتايل كو أ ، الاختزالى
بكتريا ممثلة للضوء غير منتجة للأكسجين **Anoxygenic phototrophic bacteria** *Chromatium vinosum* *Rhodospirillum rubrum*	بكتريا الكبريت الخضراء **Green sulphur bacteria** *Chlorobium limicola*	بكتريا منتجة للأستيك **Homoacetogenic fermentors** *Clostridium thermoaceticum* *Acetobacterium woodii*
بكتريا ذاتية التغذية كيميائية الطاقة **Chemolithoautotrophic bacteria** **Nitrifiers,** **Sulphur oxidizers,** **Hydrogen and Carboxydobacteria,** **Iron oxidizers**	بكتريا الايدروجين المحبة للحرارة المرتفعة **Thermophilic hydrogen bacteria** *Hydrogenobacter thermophilus*	أغلب أنواع البكتريا المختزلة للكبريت **Most sulphae reducing bacteria** *Desulfobacterium autotrophicum* *Desulfovibrio baarsii*
بكتريا ممثلة للضوء منتجة للأكسجين **Oxygenic phototrophic bacteria,** **Algae and Higher plants**	قلة من البكتريا المختزلة للكبريت **Few sulphate-reducing bacteria** *Desulfobacter hydrogenophilus*	البكتريا المنتجة للميثان **Methanogens** *Methanobacterium thermoautotrophicum* *Methanosarcina barkeri*

وبمقارنة الثلاث مسارات التى تسلكها البكتريا الأوتوتروفية لتثبيت CO_2 ، فإننا نجـــد أن التثبيت تحت الظروف اللاهوائية ، يكون أكثر إقتصاداً من حيث كمية الطاقة المستهلكة فـــى التفاعل ، عن التثبيت تحت الظروف الهوائية .

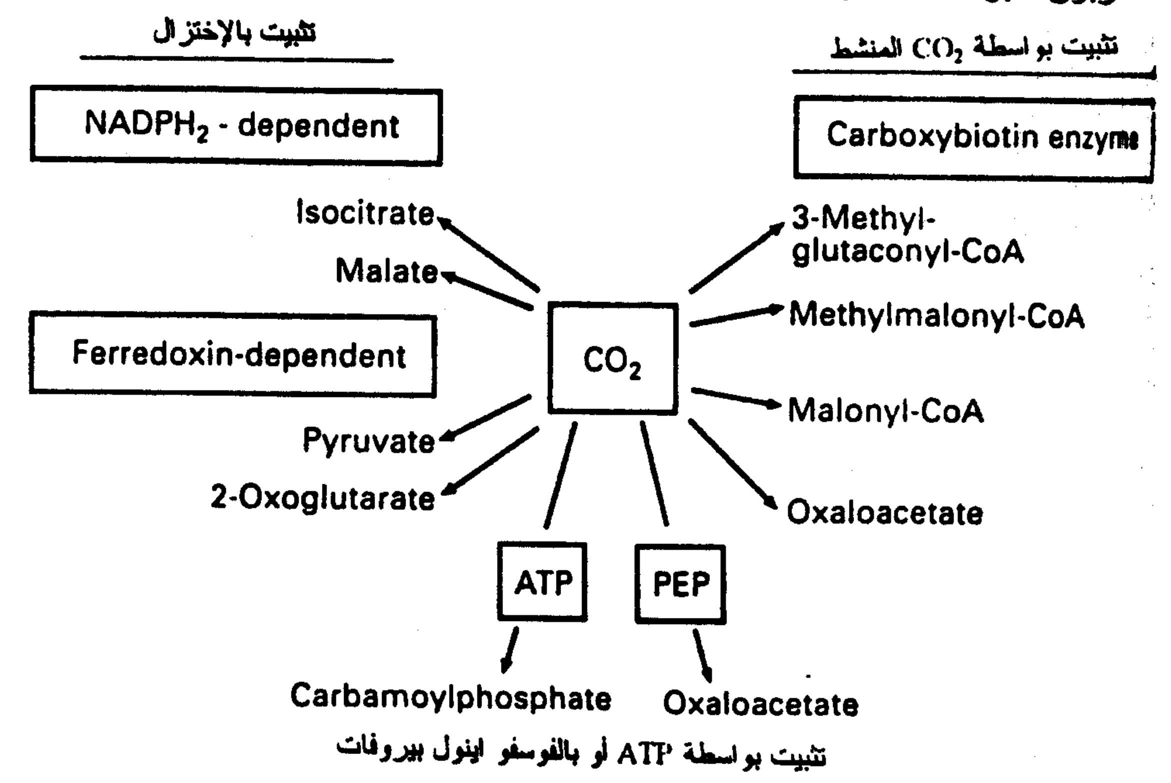
- فعند تخليق واحد مول ترايوز فوسفات من ٣ مول CO_2 عبر مسار اسيتايل CoA الاختزالى Reductive acetyl CoA تحت الظروف اللاهوائية ، فان ذلك يحتاج الى ٣ مول ATP .
- بينما يحتاج ذلك عبر دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل الاختزالية Reductive TCA cycle، الى ٥ مول ATP .
- فى حين يحتاج ذلك عبر دورة كالفن - بشام الى ٩ مول ATP .

تفاعلات عامة يشارك فيها ثانى أكسيد الكربون

General reactions of incorporated CO_2

سبق أن تناولنا حاجة الميكروبات الهتيروتروفيه لثانى أكسيد الكربون ، واستخدامها لـــه فى الأيض الغذائى لخلاياها ، كما تلعب عمليـــة إضافـــة مجموعـــة الكربوكســـيل للبيروفـــات والفوسفواينول بيروفات ، دوراً هاماً فى التفاعلات التعويضية الخاصة بدورة الأحماض ثلاثيـــة الكربوكسيل .

ويبين الشكل التخطيطى التالى [١٠ (٥) - ٣]المركبات الوسطية الناتجة بمشاركة ثانى أكســـيد الكربون ، بواسطة البكتريا .



شكل ١٠ (٥) - ٣ : مركبات الأيض الغذائى الوسطية ، الناتجة من مشاركة CO_2 .

﴿الباب العاشر - الفصل السادس﴾
التمثيل الضوئى البكتيرى

المحتويــات

«الباب العاشر - الفصل السادس»

التمثيل الضوئى البكتيرى *
Bacterial Photosynthesis

ماهية التمثيل الضوئى

تستطيع النباتات والطحالب ، والسيانوبكتريا والبكتريا الممثلة للضوء ، استخدام الضوء كمصدر للطاقة واستخدام ثانى أكسيد الكربون كمصدر للكربون ، ولكى يصبح ثانى أكسيد الكربون صالحاً للأيض الغذائى ، فإنه يختزل أولا الى كربوهيدرات ، وتسمى العملية التى بواسطتها يقوم الكائن باستخدام الضوء لتحويل ثانى أكسيد الكربون الى كربوهيدرات ، بالتمثيل الضوئى Photosynthesis ، فعملية التمثيل الضوئى ، هى عملية تحويل الطاقة الضوئية إلى طاقة كيميائية حيوية بالفسفرة الضوئية (أى ATP) القابلة للاستخدام ، وإلى قوة إختزالية (أى $NADPH^+$) ، وذلك لتخليق مادة الخلية ، وتعتبر عملية الفسفرة الضوئية وعملية التخليق الضوئى لنيوكليوتيد البيريدين المختزل ، هما العمليتين الأساسيتين للتمثيل الضوئى .

ويمثل التفاعل العام لعملية التمثيل الضوئى بالنبات والطحالب والسيانوبكتريا ، فى الآتى

$$2H_2O + CO_2 \xrightarrow[\text{الضوء والكلوروفيل}]{h\nu} \underset{\text{كربوهيدرات}}{(HCHO)_x} + O_2 + H_2O$$

حيث h : طاقة الضوء (h ثابت Planck ويساوى ٦,٢٦ × ١٠^-٣٤ جول/ثانية)

v : تردد الضوء

وتحتاج عملية التمثيل الضوئى الى توفر عنصرين أساسيين

١ - توفر كميات كبيرة من الطاقة فى صورة ATP .

٢ - توفر كميات كبيرة من مادة قابلة للإختزال (وهى الماء فى التفاعل العام السابق) .

وتستطيع البكتريا الممثلة للضوء ، الخضراء والأرجوانية ، القيام بعملية التمثيل الضوئى ، ولكنها بخلاف النباتات والطحالب والسيانوبكتريا ، فان البكتريا لاتستخدم الماء كمادة قابلة للاختزال ، كما أنها لاتنتج أكسجيناً من تمثيلها الضوئى ،

ويمثل التفاعل العام للتمثيل الضوئى البكتيرى فى الآتى

$$2H_2A + CO_2 \xrightarrow[\text{الضوء ، والكلوروفيل البكتيرى}]{h\nu} \underset{\text{كربوهيدرات}}{(HCHO)_x} + 2A + H_2O$$

---

* أنظر تصنيف المجاميع البكتيرية ، البكتريا الممثلة للضوء ، الباب السابع ، الفصل الثانى ص ٤٩٦ ومابعدها ، وص ٥١٣ ومابعدها .

ويمثل H_2A المادة القابلة للإختزال ، سواء أكانت من مركبات غير عضوية مثل H_2 أو H_2S أو $H_2S_2O_3$ ، أو من مركبات عضوية مثل اللاكتات والسكسينات .

مواقع الصبغات الضوئية بالخلية البكتيرية

تتواجد الصبغات الضوئية فى البكتريا الأرجوانية ضمن الأغشية السيتوبلازمية فى أكياس تسمى ثيلاكويدات Thylakoids ، وهذه أوعية غشائية توجد على شكل حويصلات أو أوعية أو أنابيب دقيقة ، مغمدة فى الغشاء السيتوبلازمى بالجزء الداخلى من الخلية .

وتتواجد الصبغات الضوئية فى بكتريا الكبريت الخضراء فى مكانين منفصلين بالخلية حيث توجد صبغات الاستشعار Antenne pigments (البكتريوكلوروفيل والكاروتينويدات) فى الجسيمات الخضراء المسماه بالكلوروسومات Chlorosomes ، بينما توجد صبغات التفاعل (الصبغات الضوئية رقم ١ و ٢) فى الغشاء السيتوبلازمى [أنظر جدول ٧ (٢) -٣٢ ، ص ٥٠٤ بتقسيم البكتريا] .

ويطلق على الأغشية الوعائية التى يتم الحصول عليها نتيجة تعرض الخلية للطرد المركزى المتدرج السرعات ، اسم حوامل الصبغات Chromatophores .

مراكز التفاعل الضوءكيميائية : Photochemical reaction centers

تتم التفاعلات الضوءكيميائية Photochemical الخاصة بالأكسدة والإختزال ، فى مراكز خاصة بالخلية ، تسمى بمراكز التفاعل الضوء كيميائية .

تحتوى هذه المراكز على مركبات متعددة مثل

P : وهو عبارة عن كلوروفيل بكتيرى معقد مانح للالكترونات ، يحتوى على كلوروفيل بكتيرى a ، و أوبيكينون ، وكاروتينويدات ، وبكتريو فيوفايتين Bacteriophaeophytin ، وبروتينات بها حديد وكبريت Fe-S proteins .

X : مستقبل للالكترونات .

ويمثل النظام المانح P/P^+ الجهد الموجب ، ويمثل النظام المستقبل X/X^- الجهد السالب ، ويؤدى فرق الطاقة بين النظامين الى انتقال الالكترونات ، ويمكن توضيح ذلك بالتفاعل الضوئى الذى تجريه البكتريا الأرجوانية ، بأول سلسلة نقل الالكترونات [أنظر شكل ١٠ (٦) - ١] .

$$\text{B chl a} + \text{x} \xrightarrow{h\nu} \text{B chl a}^+ + \text{x}^-$$

B chl a : كلوروفيل بكتيرى a ، hv : طاقة ضوئية

نواتج التمثيل الضوئى : Products of photosynthesis

يعتبر ATP والمركبات الاختزالية ، هى أهم نواتج التمثيل الضوئى ، ويمكن تمييز هذه النواتج فى كل من الخلايا السليمة Intact cells ، وكلوروبلاست النباتات الخضراء ، وفى معلق أغشية حويصلات التمثيل الضوئى Photosynthetic membrane vesicles للبكتريا الأرجوانية .

وجدير بالذكر أن عملية تثبيت ثانى أكسيد الكربون ، يمكن أن تتم فى الظلام دون الاعتماد على الصبغات ، طالما توفر ATP و NAD (P) H_2 ، حيث أن عملية التثبيت لاتصاحب إجبارياً تفاعل الضوء ، كما أن أماكن تواجد هاتين العمليتين بالخلية منفصلتين ، إذ يتمركز نشاط التمثيل الضوئى فى الأغشية ، بينما تحدث عملية تثبيت ثانى أكسيد الكربون فى السيتوبلازم والأنسجة الضامة للكلوروبلاست .

الفسفرة الضوئية : Photophosphorylation

تعرف عملية تخليق مركب ATP من ADP والفوسفات غير العضوى بواسطة الطاقة الضوئية ، بالفسفرة الضوئية ، وبهذه الطريقة يخزن الكائن ، الطاقة المتاحة ، فى مركب ATP لحين الحاجة اليها . وحسب طبيعة الكائن ، فإن الفسفرة الضوئية تتم بنظامين هما نظام الفسفرة الحلقية ونظام الفسفرة غير الحلقية .

تتبع النباتات الخضراء والسيانوبكتريا فى تفاعلاتها الضوئية نظام الفسفرة غير الحلقية ، وهو تمثيل ضوئى منتج للأكسجين ، وفيه يتم تفاعلين ضوئيين متعاقبيين ، مع استخدام الماء كمانح للالكترونات .

وتتبع البكتريا الممثلة للضوء فى تفاعلاتها الضوئية نظام الفسفرة الحلقية ، وهو تمثيل ضوئى غير منتج للأكسجين ، وفيه يتم تفاعل ضوئى واحد ، وهو تفاعل كافى لاستخدام مانحات الإيدروجين التى لها جهد أكسدة وإختزال أكثر سالبية من الماء .

الفسفرة الضوئية الحلقية : Cyclic photophosphorylation

تتبع البكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين نظام الفسفرة الحلقية ، لإحتواء خلاياها على صبغات البكتريوكلوروفيل (الكلوروفيل البكتيرى) ، وصبغات النظام الضوئى رقم ١ ، وهى صبغات تنتج $NADPH^+$ ولاتنتج O_2 ، والالكترونات التى يتم سحبها من الدورة لاختزال NAD لاتستبدل من التحلل المائى ، بل من مركبات أخرى عضوية أو غير عضوية.

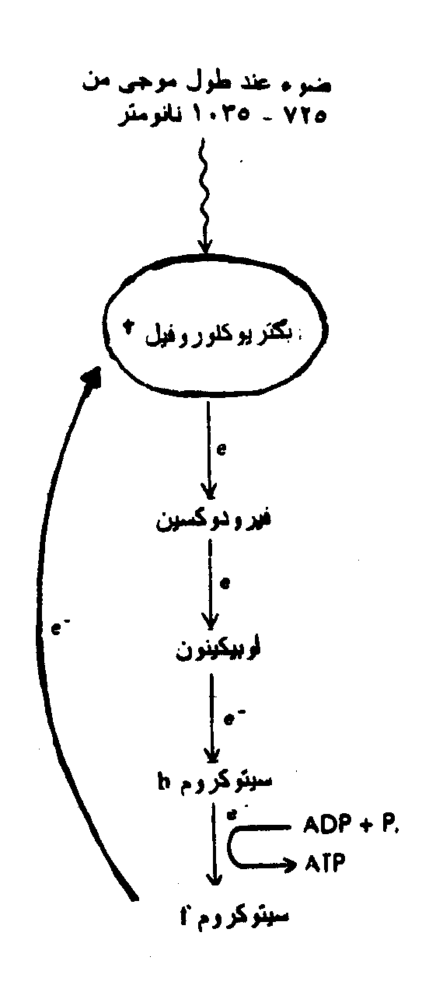
يتواجد الكلوروفيل البكتيرى فى النظم الغشائية بالخلية البكتيرية ، وهو يستطيع أن يمتص الضوء فى منطقة طيف الأشعة تحت الحمراء (ذات الطول الموجى من ٧٢٥ إلى ١٠٣٥ نانومتر) .

وعند امتصاص الكلوروفيل البكتيرى للطاقة الضوئية ، تحدث له إثارة ، يفقد على أثرها الكترونات ، ويصبح الكلوروفيل بذلك موجب الشحنة ، ويعمل كعامل مؤكسد .

ينتقل الالكترون المنفصل الى بروتين هيمى Heme-protein محتوى على الحديد ، يسمى فيرودوكسين Ferrodoxin ثم إلى الأوبيكينون ، وإلى سيتوكروم b ، وإلى سيتوكروم f ، وأخيراً يعود الالكترون الى البكتريوكلوروفيل الموجب الشحنه ، وبذلك يكون الالكترون قد أخذ مداراً حلقياً ، بدأ من البكتريوكلوروفيل وعاد اليه . وشكل [١٠ (٦) -١] يوضح ذلك

الطاقة الناتجة من انتقال الالكترون من سيتوكروم b الى سيتوكروم f ، تستخدم فى عملية الفسفرة لانتاج ATP من ADP مع فوسفور غير عضوى .

لاحظ أنه فى الفسفرة الحلقية ، لم يحدث اختزال لمركب $NADP^+$ ، إذ أن إختزال $NADP^+$ فى التمثيل الضوئى البكتيرى ، لايتم فى عملية الفسفرة الضوئية ، ولكن يتم بواسطة قوة إختزالية يتحصل عليها من مركبات أخرى عضوية أو غير عضوية ، توجد بالوسط اللاهوائى الذى توجد فيه هذه البكتريا ، مثل H_2 ، H_2S ، $H_2S_2O_3$ ، اللاكتات ، والسكسينات .



شكل ١٠ (٦) - ١ : الفسفرة الحلقية كما تحدث فى البكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين .

- يعود الالكترون (e^-)، بحالة طاقة أقل ، إلى البكتريوكلوروفيل ، الذى أصبح موجب الشحنه بعد القذف الأولى للالكترون
- لايحدث إختزال لـ NADP ، ولايحتاج هذا النظام الى مانح خارجى لهذه العملية
- تحدث الفسفرة الضوئية وتخليق ATP من ADP مع فوسفور غير عضوى ، فى الخطوة التى ينتقل فيها الالكترون من سيتوكروم b إلى سيتوكروم f .

الفسفرة الضوئية غير الحلقية : Non-cyclic photophosphorylation

تتبع النباتات والطحالب والسيانوبكتريا (بكتريا ممثلة للضوء منتجة للأكسجين) ، نظام الفسفرة غير الحلقية ، لإحتواء خلاياها على الكلوروفيل ، وصبغات النظام الضوئى رقم ١ ، ورقم ٢ .

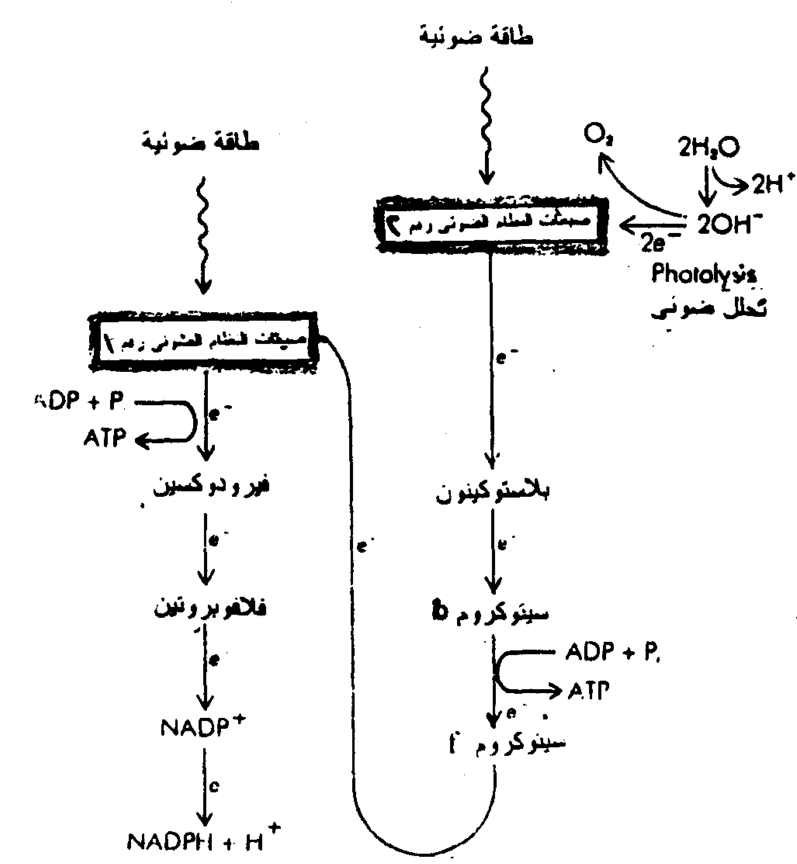
وصبغات النظام الضوئى رقم ٢ ، قادرة على شطر جزىء الماء وانتاج O_2 ، مع تكوين قدرة إختزالية ترتبط مع صبغات النظام الضوئى رقم ١ بالخلية ، لاستكمال عملية التمثيل .

وفى هذا النظام ، عندما تمتص صبغة النظام الضوئى رقم ٢ للطاقة الضوئية ، فإنه تحدث لها إثارة ، تفقد على أثرها الكترونات ، وينتقل الإلكترون الى البلاستوكينون ، الى سيتوكروم b إلى سيتوكروم f ، وأخيرا إلى النظام الضوئى رقم ١ . وتحدث فسفرة ضوئية عند انتقال الالكترونات من سيتوكروم b الى سيتوكروم f .

وفى هذا النظام أيضا ، فإنه عندما تمتص صبغة النظام الضوئى رقم ١ للطاقة الضوئية ، تفقد الصبغة الكترونات ، وتنتقل الالكترونات الى الفيرودوكسين ، إلى الفلافوبروتين، إلى $NADP^+$. وتحدث الفسفرة الضوئية ثانية عند إنتقال الإلكترونات من صبغة النظام الضوئى رقم ١ إلى الفيرودوكسين . ويلاحظ أن $NADP^+$ يختزل فى هذا الجزء من النظام .

ويختلف نظام الفسفرة غير الحلقية ، عن نظام الفسفرة الحلقية ، فى أن الالكترونات المفقودة فى النظام الضوئى رقم ٢ ، لاتعود ثانية إلى النظام الضوئى رقم ٢ ، وبديلاً عن ذلك ، فإن الالكترونات المفقودة ، تستعوض فى النظام الضوئى رقم ٢ ، من الالكترونات الناتجة بالتحلل الضوئى Photolysis للماء ، ويلعب البلاستوكينون دوراً هاماً فى نقل البروتونات الناتجة من تحلل الماء .

ويوضح شكل [١٠ (٦) – ٢] دورة الفسفرة الضوئية غير الحلقية .



شكل ١٠ (٦) – ٢ : الفسفرة الضوئية غير الحلقية ، كما تحدث فى النباتات الخضراء والسيانوبكتريا .

- فى هذا النظام ترتفع طاقة الالكترونات فتختزل $NADP^+$ ، ولاتعود الالكترونات ثانية الى نظام الصبغات الضوئية .

وتأتى البروتونات اللازمة لعملية الاختزال ، من التحلل الضوئى للماء ، الذى ينتج عنه أكسجين .

- تستعاض الالكترونات فى صبغات النظام الضوئى رقم ٢ ، من أيونات OH^- الناتجة من تحلل H_2O بالتحلل الضوئى ، حيث ينشق أيون OH^- إلى e^- و H^+ و ½ O_2 .
- تحدث الفسفرة الضوئية بهذا النظام وتخليق ATP من Pi+ ADP عند انتقال الالكترون من سيتوكروم b الى سيتوكروم f ، وأيضا عند انتقال الالكترون من النظام الضوئى رقم ١ الى الفيرودوكسين .

توزيع البكتريا الممثلة للضوء : Distribution of the phototrophic bacteria

توجد البكتريا الممثلة للضوء طبيعيا فى المناطق المائية اللاهوائية ، مثل تحت سطح البرك والبحيرات ، وكذلك بقاع القنوات التى تنساب بها المياه ببطء ، وتوجد أيضا تلك البكتريا بالمواد النباتية المتحللة الموجودة تحت أسطح المياه الضحلة ، وقد توجد تلك البكتريا أيضا على أعماق أكبر ، على سطح الطبقات الطينية ، بقاع البحيرات .

وكثيرا مايعود لون البقع الملونة الموجودة على سطح الطين بأعماق البحيرات الى أنــواع مــن بكتريا *Chromatium* مثل *C. okenii , C. warmingii & C. weissei* ، بالاضافة الى أنــواع بكتيرية أخرى تتبع أجناس *Chlorobium & Thiospirillum* .

كما تنمو البكتريا الأرجوانية والخضراء فى البرك الضحلة ، التــى يغطــى سـطحها طبقات سميكة من الطحالب وزنابق الماء Water-lilies ، حيث يعمــل هــذا الغطــاء النبــاتى كمرشحات بيولوجية لمكونات الطيف التى تستخدمها الطحالب الخضراء والسيانوبكتريا ، بينمــا تسمح بمرور مكونات الطيف التى يمتصها الكلوروفيل البكتــيرى والكــاروتينويدات الحمــراء الداكنة بالبكتريا الممثلة للضوء ، وبالتالى فإن البكتريا الضوئية الغير منتجة للأكسجين يمكنها أن تنمو تحت هذا الغطاء النباتى ، بينما لايتيسر ذلك للسيانوباكتريا أو للطحالب الخضراء .

وفى البيئات التركيبية المناسبة المحتوية على فيتامين B_{12} ، يمكن أن تســود أنــواع مختلفة من البكتريا الخضراء والأرجوانية ، عن طريق الاستخدام المناسب لكبريتيد الايدروجيــن وتركيزات مناسبة من الأملاح المعدنية والحرارة وشدة الضوء و ق يد مناسبة . وتلعب طبيعــة مانحات الايدروجين وبعض الفيتامينات (مثل البيوتين ، ٤ أمينوبنزويك أسيد ، ثيامين ، نيكوتنيك أسيد) دورا جوهريا فى النمو الانتقائى لأفراد من البكتريا الأرجوانية الغير كبريتية .

الأيض الغذائى بالبكتريا الممثلة للضوء غير المنتجة للأكسجين

Metabolism of photosynthetic anoxygenic bacteria

تختلف عملية التمثيل الضوئى بالبكتريا الكبريتية وغير الكبريتية ، عن التمثيل الضوئــى بالنباتات والطحالب الخضراء والسيانوبكتريا ، فى النقاط التالية*

١ – عدم قدرة البكتريا على استخدام الماء كمانح للايدروجين .
٢ – عدم تصاعد غاز الأكسجين من عملية التمثيل الضوئى البكتيرى .
٣ – قدرة البكتريا على استخدام H_2S من المواد العضوية كمانحات للإيدروجين ، وهذه القــدرة غير موجودة بالنباتات أو الطحالب أو السيانوبكتريا .

وتثير عملية الأيض الغذائى بالبكتريا الممثلة للضوء العديد من التســاؤلات ، فمعظــم أنواع البكتريا الأرجوانية غير الكبريتية التابعة لفصيلة Chloroflexaceae ، قادرة على النمــو تحت الظروف اللاهوائية فى وجود الضوء ، بالإضافة إلى قدرتها على النمو تحــت الظــروف الهوائية فى عدم وجود الضوء ، أى فى الظلام ، بينما هناك مجموعــة أخــرى مــن البكتريــا اللاهوائية حتماً تمثل الضوء إجبارياً ، والبعض الآخر يستخدم H_2 أو H_2S أو الكبريت المعدنــى كمواد مانحة للإيدروجين .

أغلب أنواع البكتريا الممثلة للضوء ، يمكنها تثبيت ثانى أكسيد الكربون عــبر مســار ريبولوز داى فوسفات ، ومع ذلك فإنها تستخدم $NADH_2$ أكثر من استخدامها $NADPH_2$ كمــا هو الحال فى النباتات الخضراء ، وذلك لاختزال ٣ فوسفوجلسرات ، كمــا يســتخدم البعــض الآخر من البكتريا الممثلة للضوء ، الفيرودوكسين أو الكربكســلة الاختزاليــة المعتمــدة علــى NADP ، لتمثيل الكربون ADP-dependent reductive carboxylation ، وتقــوم بكتريــا *Chlorobium* بتثبيت CO_2 عبر دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل المختزلة .

* أنظر فروقات التمثيل الضوئى بين البكتريا والنباتات بجدول [٧ (٢) – ٣١] ، ص ٥٠٠ .

مانحات الإيدروجين : Hydrogen donors

تعتمد البكتريا الضوئية اللاهوائية على مصدر خارجي مانح للإيدروجين لإختزال CO_2 وتثبيته ، حيث يمكنها استخدام الايدروجين فى الصورة الغازية أو H_2S أو ثيوكبريتات أو أحماض عضوية أو كحولات أو سكريات أو بعض المركبات الأروماتية . ويمكن لأنواع من Rhodospirilla , *Rhodobacter* , Chromatia , Chlorobia ، أن تنمو فى وجود الضوء عند توافر H_2 و CO_2 ، وتكون كمية الطاقة الضوئية فى هذه الحالة ، مساوية لكمية الطاقة المتكونة فى حالة التمثيل الضوئى الذى ينتج عنه أكسجين Oxygenic photosynthesis كما فى حالة السيانوبكتريا .

وتستطيع بكتريا الكبريت الخضراء والأرجوانية بالإضافة الى القليل من البكتريا الارجوانية الغير كبريتية ، أكسدة كبريتيد الايدروجين الى كبريتات ، كما تقوم معظم أنواع بكتريا الكبريت الارجوانية بتجميع الكبريت مرحليا Transiently داخل خلاياها أثناء هذه العملية .

وترجع القدرة على الأكسدة السريعة لكبريتيد الايدروجين فى وجود الضوء مع تراكم الكبريت بداخل الخلايا ، إلى العدد الكبير من بكتريا Chromatia الموجودة فى البرك والمياه الغدقة ، حيث يمثل الكبريت المتجمع قوة إختزالية ، تسمح بتثبيت CO_2 فى وجود الضوء ، حتى فى غياب مانحات خارجية للايدروجين .

ويزدهر نمو Chlorobia التى يمكنها أكسدة H_2S الى كبريت ، فى وجود البكتريا اللاهوائية *Desulfuromonas acetoxidans* التى تختزل الكبريت إلى كبريتيد الايدروجين ، مع أكسدة الايثانول الى أسيتات ، والعلاقة بين هذين الميكروبين (*Chlorobium & Desulfuromonas*) خير مثال على التعايش الوظيفى Functional association ، أو مايعرف فى هذه الحالة بالتغذية المشتركة Syntrophy* .

الأيض الغذائى فى الظلام : Dark metabolism

يمكن للعديد من البكتريا الارجوانية الغير كبريتية وبكتريا *Chloroflexus* ، النمو هوائيا فى الظلام ، وذلك عند توفر كميات من مواد عضوية ، مما يدل على إمتلاك هذه البكتريا لمكونات الايض الغذائى التنفسى المتضمن دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل . ويدل تمثيل أعداد متنوعة من الأحماض العضوية والسكريات ، بواسطة أفراد من فصائل Chromatiaceae و Rhodospirillaceae ، يدل على أن مسارات الايض الغذائى فى البكتريا الضوئية ، يختلف عن مسارات الأيض الأخرى المعروفة (فركتوز داى فوسفات ، انتنر - دودوروف ، ودورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل) .

الإيدروجين المنتج ضوئيا وتثبيت النتروجين

تقوم بعض أفراد من فصائل Rhodospirillaceae و Chlorobiaceae ، بإنتاج الإيدروجين الجزيئى فى وجود الضوء ، وذلك عند توفر مانحات الايدروجين العضوية أو الغير عضوية المناسبة . ويعتمد إنتاج الايدروجين على نسبة الكربون الى النيتروجين الموجودة فى الوسط ، كما يتم تثبيط هذه العملية فى وجود أيونات حرة من الأمونيوم .

---

* التغذية المشتركة Syntrophy : صورة من صور التعاون بين نوعين من الكائنات ، تتضمن تبادل المواد الغذائية بينهما . وفى التغذية المشتركة ، فان التعاون بين النوعين يكون قوياً ، ولكن ليس إجبارياً .

ويلعب إنتاج الايدروجين عن طريق التمثيل الضوئي Photoproduction of H_2 ، دوراً مع إنزيم النتروجينيز ، ويتمثل ذلك في قدرة الايدروجين على إختزال البروتونات ، بالإضافة الى اختزال النتروجين ، وينفرد الايدروجين في حالة توافر كميات زائدة من الطاقة والقوة الإختزالية . والأغلبية العظمى من البكتريا الضوئية لها القدرة على تثبيت النتروجين ، ولكن معدل النمو في هذه الحالة ، يكون أقل منها في حالة وجود أيونات الأمونيوم .

التمثيل الضوئي المنتج للأكسجين : Oxygenic photosynthesis

الثيلاكويدات وصبغات الاستشعار : Thylakoids and antenna pigments

تتم عملية التمثيل الضوئي في الثيلاكويدات Thylakoids ، وهذه عبارة عن أوعية غشائية محكمة الغلق مسطحه ، وتوجد الثيلاكويدات في خلايا السيانوباكتريا ، متعمقة بالسيتوبلازم وتتصل بالغشاء السيتوبلازمي في أماكن محددة ، بينما توجد في الكلوروبلاست الموجود في النباتات الراقية والطحالب الخضراء . وتحتوي أغشية الثيلاكويدات التي في الكلوروبلاست على كلوروفيل a , b ، كاروتينويدات ، حوامل الكترونات ، وإنزيمات ، وتعمل أغلب جزيئات الكلوروفيل (٩٩,٥%) بالإضافة الى الصبغات المساعدة (كاروتينويدات والفايكوبروتينات) ، على إمتصاص الضوء ونقل الطاقة ، بينما يعمل جزء ضئيل من بكتريوكلوروفيل أ Bchl a في مركز التفاعل الضوءكيميائي بالخلية البكتيرية ، حيث تتم تفاعلات الأكسدة والاختزال ، وتقوم صبغات الإستشعار Antenna pigments بتجميع الطاقة الضوئية وإرسالها الى مركز التفاعل الكلوروفيللي ، لتنتقل في تسلسل كما يلي

(Carotenoid ⟶ Carotenoid*;

Chlorophyll + Carotenoid * ⟶ Chlorophyll* + Cartenoid)

وتقوم الكاروتينويدات بحماية الكلوروفيل من تأثير ضوء الشمس الساطع ، الذي يعمل على هدم الكلوروفيل نتيجة الأكسدة الضوئية ، وذلك عن طريق تحويل الجزء الزائد من الطاقة الضوئية الى حرارة . وتشكل صبغات الاستشعار وصبغات مركز التفاعل ، وحدة التخليق الضوئي بالخلية Photosynthetic unit .

التفاعلات الضوئية : Photoreactions

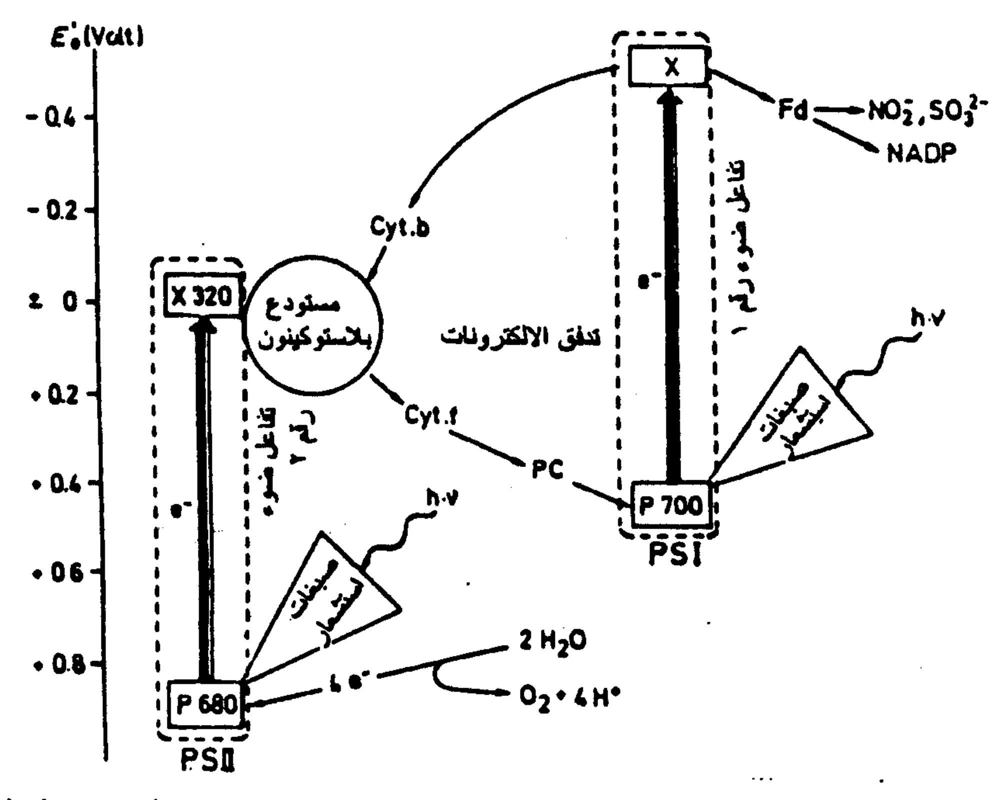
هناك تفاعلين ضوئيين في التمثيل الضوئي ، الذي ينطلق عنه أكسجين بنظامين من الصبغات ، ويعرف نظام الصبغة المسئول عن الطول الموجي الأطول (λ<730 nm) بالنظام الضوئي رقم I ، بينما يعرف النظام الضوئي المسئول عن الطول الموجي الأصغر (λ <700 nm) بالنظام الضوئي رقم II .

ويحتوي مركز تفاعل النظام الضوئي رقم I على (P 700)* Chl a_1 ، الذي يقوم بدور رئيسي كمانح للألكترون في التفاعلات الضوئية الأولى ، حيث يتم تنشيطه بطاقة الضوء التي تمتص بصبغات الاستشعار Antenna pigments ، وبالتالي يحدث أكسدة Chl a_1 إلى Chl a_1^+ وينطلق منه الإلكترون تاركاً فراغاً ، وسرعان مايمتلىء بالكترون آخر من خلال سلسلة نقل

* ترمز P الى الطول الموجي الذي يحدث عنده أقصى انخفاض في الامتصاص Wavelength of the Maximum absorption decrease ، عند الإضاءة .

الالكترونات . ويستقبل الالكترون المنبعث من $Chl\ a_1$ غالباً ، بروتين يحتـوى علـى كـبريت وحديد (X) ، الذى يتميز بجهد أكسدة وإختزال سالب ، يـتراوح مـابين (-٤٢٠ إلـى -٥٣٠ ملليفولت) ، ومنها ينتقل الالكترون الى الفيرودوكسين ، ومـن الفيرودوكسـين المخـتزل الـى NADP أو الى أى مستقبلات أخـرى . كمـا يمكـن أن ينتقـل الالكـترون مـن 'X' عـبر البلاستوكينون ، والسيتوكروم والبلاستوسيانين Plastocyanine * فى إنسياب الكترونى حلقـى ، عائدا الى مركز تفاعل $Chl\ a_1^+$ ، مما يعوض الفراغ الالكترونى الذى حدث فى الخطوة الأولى.

والشكل التخطيطى [١٠ (٦) - ٣] يبين المسارات الرئيسية لانتقال الالكترونات وتدفقها ، فـى خطوات االتمثيل الضوئى ، والتى تعرف بنظام Z ، Z-scheme ، الخاص بتدفق الالكترونات .



شكل ١٠ (٦) - ٣ : المسارات الرئيسية لانتقال الالكترونات (التى تعرف بنظام Z-Scheme) فى مراحل التمثيل الضوئى

PSI	: صبغات النظام الضوئى رقم ١ .
P700	: $Chl\ a_I$ المانح للألكترونات بصبغات PSI .
Fd	: فيرودوكسين .
X	: مستقبل الالكترونات بصبغات PSI ، وهو بروتين محتوى على حديد وكبريت .
PC	: بلاستوكينون .
Cyt	: سيتوكروم .
PSII	: صبغات النظام الضوئى رقم ٢
P680	: $Chl\ a_{II}$ المانح للألكترونات بصبغات PSII
X320	: مستقبل الالكترونات بصبغات PSII .
Hv	: طاقة ضوئية

الخطوط المتقطعة تضم مراكز التفاعلات الضوكيميائية

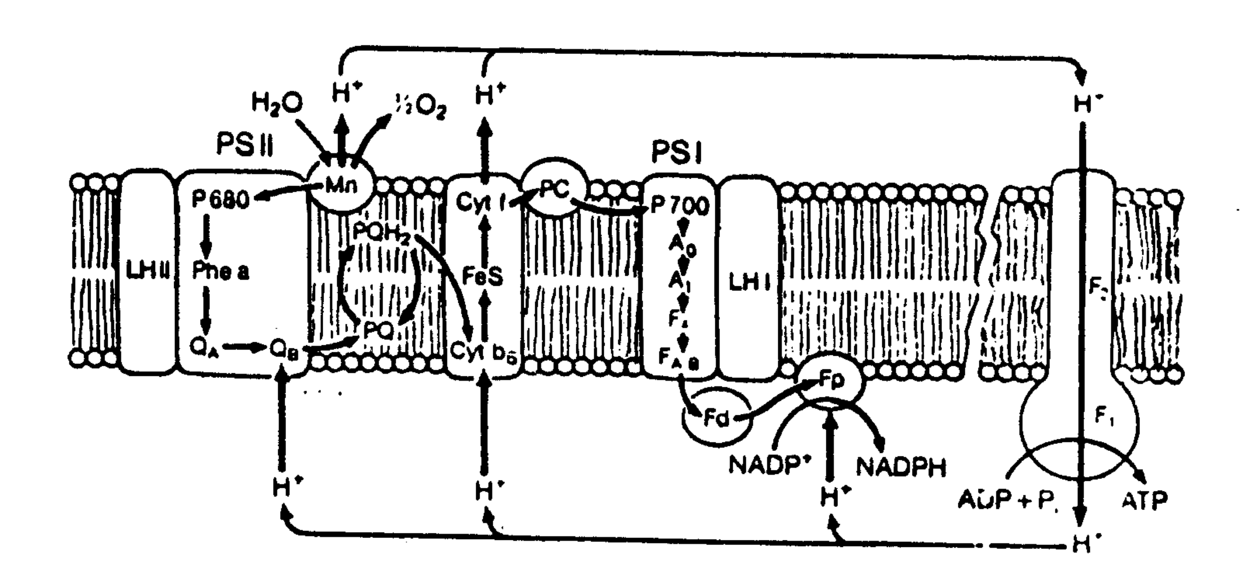
* البلاستوسيانين بروتين يحتوى على نحاس ذائب .

يحتوى مركز التفاعل للنظام الضوئى II على (P 860) $Chl\ a_{II}$ ، الذى يعتبر المانـــح الأساسى للإلكترون فى التفاعل الضوئى الثانى . ويحدث أيضا إثارة للكلوروفيل $Chl\ a_{II}$ نتيجة الطاقـــة الضوئية الممتصة بواسطة صبغات الاستشعار الخاصة بالنظام الضوئـــى رقـم II ، وينبعـث الكترون يتم استقباله بجزىء بلاستوكينون (X320) الذى يختزل بالتالى الـــى Semiquinone . وفى هذه الحالة تكون القوة الاختزالية للالكترون الناتج من نقل الإلكـــترون ضعيفـــة ، حيـــث تصل الى حوالى صفر ملليفولت $E_0 \sim 0\ mV$. ويتم ملأ فراغ الالكترون فى هذا التفاعل عـــن طريق أحد الالكترونات الناتجة من إنشقاق الماء ، وينتـــج O_2 حيـــث يعمـــل المـــاء كمـــانح للالكترونات

$$2\,H_2O \longrightarrow O_2 + 4\,H^+ + 4\,e^-$$

ويتم ربط نظامى الصبغات الضوئية I و II من خلال سلسلة نقل الإلكترونات ، التى يكتســـبها من X320 ، وهذا يتم أكسدته بالنظام الضوئى رقم I عبر إنتقـــال الإلكترونـــات الـــى حوامـــل الأكسدة والإختزال ، مثل سيتوكروم f ، والبلاستوسيانين والبلاستوكينون ، ومن هنـــا نجـــد أن البلاستوكينون يلعب دوراً هاماً فى تجميع وتوزيع الالكترونات من مصادر مختلفة .

ويبين الشكل التخطيطى [شكل ١٠ (٦) - ٤] انتقال الالكترونات الناتجة من انشقاق الماء داخـــل غشاء الثيلاكويد الى الاستروما ، بالنباتات الخضراء .



شكل ١٠ (٦) - ٤] : شكل تخطيطى للغشاء الممثل للضوء يحتوى على النظام الضوئى رقم ١ - PSI والنظام الضوئى رقم ٢- PSII ، فى النباتات الخضراء .

مكونات تركيب غشاء التمثيل الضوئى فى الثيلاكويد ، مرتبة بالغشاء بحيث تسمح بتدفق الالكترونـــات (e^-) ، خلال الغشاء .

وتلك المكونات هى

PSI : صبغات التمثيل الضوئى I

PSII : صبغات التمثيل الضوئى II

LHI : صبغات الاستشعار I

LHII : صبغات الاستشعار II

F_0 : مُكوّن فى ATP synthase

F_1 : مُكوّن فى ATP synthase

A_0 : كلوروفيل - المستقبل الأولى للألكترونات بصبغات PSI

A_1 : Phylloquinone - المستقبل الثانوى للألكترونات بصبغات PSI

Fx : مركز كبريت - حديد : X

$F_{A,B}$: مركز كبريت - حديد : B , A

F_d : فيرودوكسين

F_p : فيرودوكسين NADP - أوكسيدو ريداكتيز (فلافوبروتين)

P700 : صبغة ٧٠٠ ، فى كلوروفيل أ

PC : بلاستوسيانين

FeS : مركز كبريت - حديد

PQ : بلاستوكينون

PQH_2 : بلاستوكينون مختزل

Mn : منجنيز يحتوى على معقد قابل للتحلل المائى

P680 : صبغة ٦٨٠ ، فى كلوروفيل أ

Phea : Phaeophytin a : المستقبل الأولى للألكترونات بصبغات PSII

QA : كينون - أ : المستقبل الثانوى للألكترونات بصبغات PSII

QB : كينون - ب : المستقبل الثانوى للألكترونات بصبغات PSII

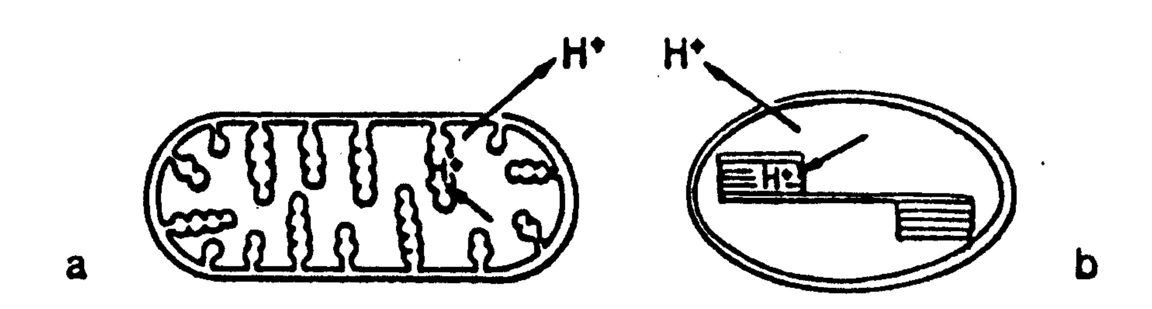
إنتقال الالكترون الموجه وحدوث تدرج للبروتون

Vectorial electron transport and formation of a protein gradient

عند تعريض معلق من خلايا الكلوروبلاست الممزقة أو معلق من الثيلاكويدات إلى الإضاءة ، فإنه تحدث زيادة فى قيم ق يد الوسط الخارجى ، يعقبه إنخفاض فى قيمة ق يد وذلك عند ابعاد الاضاءة ، وذلك لأن الاضاءة تسبب إنتقال البروتونات نحو الثيلاكويدات [شكل ١٠ (٦) - ٥] .

وبمعنى آخر ، فإن الطاقة الضوئية تسبب حدوث تدرج للبروتون عبر أغشية الثيلاكويد ، وقد لوحظ منذ فترة طويلة أنه يمكن تخليق ATP فى الظلام من معلقات ثيلاكويد ، عند زيادة قيمة ق يد من ٤ الى ٨ ، كما وجد أن إنتقال إلكترون واحد بتفاعل الضوء ، يؤدى الى انتقال ٢ بروتون داخل الثيلاكويد . ومن هنا يمكن القول أن تفاعلى نظامى الضوء (I و II) ، بالاضافة الى تفاعلات سلسلة نقل الالكترونات ، ينتج عنها إنسياب موجه للألكترونات ، من الماء الى داخل أغشية الثيلاكويد ، ومنها الى NADP خارج الغشاء ، الذى يتم بالتالى إختزاله تاركا شحنته على الغشاء ، وهذا يعنى أن تفاعلات الضوء تعمل كمضخة للبروتون (شحنة موجبة داخل الثيلاكويد) ، وبالتالى الى حدوث تدرج للبروتون .

ويؤدى تدرج البروتون إلى تولد ATP ، وذلك بإحداث البروتون لتفاعل إزدواجى يربط بين انتقال الالكترونات وعملية الفسفرة الضوئية ، بأسلوب مماثل لما يحدث عند إنتقال الالكترونات فى السلسلة التنفسية لعمل فسفرة تأكسدية وانتاج ATP .



شكل ١٠ (٦) - ٥ : انتقال البروتونات فى الخلايا المعرضة للضوء وفى العضيات .
a - بكتريا *Rhodopseudomonas sphaeroides*
b - الكلوروبلاست

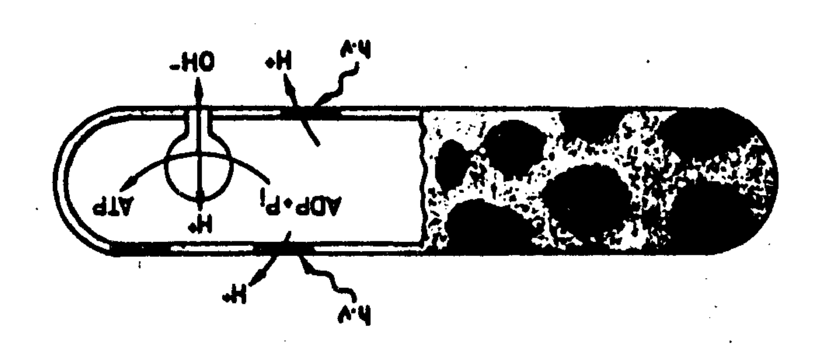
استخدام البكتريا المحبة للملوحة للطاقة الضوئية .

Utilization of light energy by halobacteria

تتبع البكتريا المحبة للملوحة مجموعــة بكتريــا الأركيوبكتريــا Archaeobacteria . وتعتبر الأنواع التابعة لجنس *Halobacterium* مثــل (*H. halobium, H. cutirubrum*) مــن الناحية الفسيولوجية ، مجموعة على مستوى عالى من التخصص ، وهى توجــد طبيعيــا فــى المحاليل الملحية المشبعة أو المحتوية على التركيزات العالية من الأمـــلاح ، مثــل البحــيرات الملحية العظمى فى أوتا Utah ، أو فى الملاحات التى يتم فيها تبخير المــاء للحصــول علــى الأملاح .

وتتأقلم هذه البكتريا المحبة للملوحة مع بيئتها القاسية ، وذلك عن طريق وجود تركيزات عاليــة من الملح داخل خلاياها مشابهة لتلك الموجودة فى الوسط الخارجى ، حيث تنمو جيداً فى وجــود NaCl بتركيز ٣,٥ – ٥,٠ مولر . كما تحتاج الانزيمات الخاصة بهذه الخلايا الـــى تركــيزات ملحية ، تقدر بـــ ٢ مولر للحصول على أعلى ثبات وأكبر نشاط .

بكتريا *H. halobium* ذات خلايا عصوية الشكل ، تحتوى على صبغـــات حمـــراء أو برتقالية أو صفراء ، حسب محتواها من الكاروتينويدات . ويظهر غشاؤها السيتوبلازمى علـــى شكل بقع حمراء داكنة ، قطرها حوالى ٠,٥ ميكرومتر ، وتشغل هذه البقع حوالى نصف مساحة سطح الخلية [شكل ١٠ (٦) – ٦] ، وتشكل المساحات التى تشغلها الصبغة ، مايسمى بالغشـــاء الأرجوانى Purple membrane ، ويعزى لون الغشاء إلى وجود Bacteriorhodopsin المشــابه لـــ Rhodopsin الموجود فى الخلايا البصريـــة Visual cells للحيـــوان ، وتســبب صبغــة البكتريورودوبسين حدوث تدرج للبروتون ، بين السطح الداخلى والخارجى للغشاء الخلوى أثنــاء الإضاءة ، وبذلك يعمل الغشاء الارجوانى كمضخة للبروتونات ، مما يؤدى الى استمرار الجــهد الالكتروكيميائى للغشاء Electrochemical membrane potential ، وتوليــد ATP . وتعتــبر الطاقة المتحصل عليها بواسطة هذا الغشاء فى الضوء ، مكملة للطاقة المتحصل عليــها نتيجــة أكسدة مادة التفاعل تحت ظروف هوائية .



شكل ١٠ (٦) – ٦ : بكتريا *Halobacterium halobium*
على اليسار : البقع الداكنة اللون والغشاء السيتوبلازمى الأرجوانى .
على اليمين : وظيفة الغشاء الأرجوانى التى تعمل كمضخة للبروتونات ، بتأثير التعرض للضوء .
hv : طاقة ضوئية

﴿الباب العاشر - الفصل السابع﴾
تثبيت النتروجين الجوى

المحتويـــات

«الباب العاشر - الفصل السابع»

تثبيت النتروجين الجوى

Molecular Nitrogen Fixation

تثبيت النتروجين

يقصد بتثبيت النتروجين الجوى ، تحوله من الحالة الحرة الى صـــورة مرتبطـــة فـــى مركب كيميائى ، وقد يتم التثبيت حيويا بواسطة الأحياء الدقيقة ، أو يتم بطـــرق غـــير حيويـــة بواسطة تفاعلات فيزيائية أو كيميائية .

ومن حيث تثبيت النتروجين الجوى حيويـــا Biological nitrogen fixation ، فـــإن بدائيات النواه ، هى الكائنات الوحيدة القادرة على الإمساك بنتروجين الهواء الجوى وتثبيته فـــى خلاياها ، ومن بدائيات النواة مايثبت النتروجين وهى فى حالة المعيشة الحرة ، ومنـــها مـــايثبت النتروجين وهى فى حالة المعيشة التكافلية * مع النباتات الراقية .

النتروجين الذى تثبته بدائيات النواة ، تحوله بتفاعلات حيوية الى مركبـــات عضويـــة تبنى به خلاياها ، ومايزيد عن حاجتها ، أو يتخلف عنها عقب تحللها ، يذهب الـــى المســـتودع النتروجينى بالتربة ، أو الى الأنسجة النباتية المتعايشة معها .

ويقدر ماتثبته بدائيات النواة مع البقوليات ، بحوالى من ١٠٠ الى ٣٠٠ كجم نتروجين/ هكتـــار / سنة ، وعلى مستوى العالم فيقدر ذلك بحوالى $١٠^{٨}$ إلى $١٠^{٩}$ طن / سنة .

وبجانب تثبيت نتروجين الهواء الجوى حيويا ، فإن كمياتـــا أخـــرى محسوســـة مـــن النتروجين ، تثبت بطريقة غير حيوية (حوالى ٥% من الكمية الكلية المثبتـــة) ، وتتحـــول إلـــى أكاسيد نتروجين وأمونيا بواسطة البرق والأشعة فوق البنفسجية ، أو من خلال الصناعة كما فـــى طريقة هابر - بوش Haber-Bosch process ، حيث يثبت النتروجين فى وجود عوامل مساعدة وضغط وحرارة مرتفعة ، حسب المعادلة

$$N_2 + 3H_2 \xrightarrow[\text{500°C at 250 atm}]{\text{Ferric oxide}} 2\,NH_3$$

عملية تثبيت النتروجين حيوياً عملية إختزالية ، تقوم بها البكتريا التى تحتوى خلاياهـــا على إنزيم النتروجينيز، المثبت لنتروجين الهواء الجوى مع انتاج الأمونيا ، والانزيـــم حســـاس للأكسجين ، ويتلف عندما يتعرض له ، فهو يعمل فى جو مختزل (pO_2 مـــن ٠,٠١ إلـــى ٠,٢ ضغط جوى) ، ويقوم الانزيم بتنشيط وإختزال النتروجين الى أمونيا حسب المعادلة

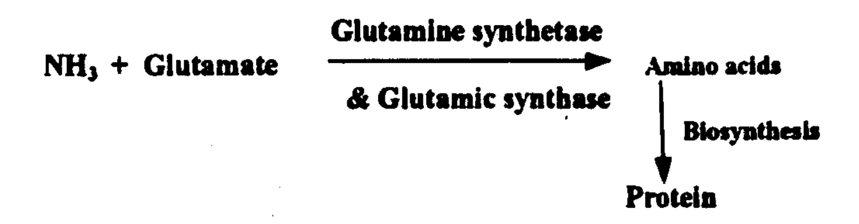
---

* التكافل Symbiosis تعاون إجبارى بين كائنين ، حيث يعتمد كل نوع فى معيشته على الآخر ، ويستفيد من وجوده ، ويتبادل معه المنفعة .

$$N_2 \longrightarrow N \equiv N \xrightarrow[+\ 16\ ATP]{8H + 8e^-} 2NH_3 + H_2\ \ 16\ ADP + 16\ Pi$$

Pi: فوسفور غير عضوى

والأمونيا المثبتة داخل خلايا البكتريا ، تُمثَّل حيويا لبناء مواد بروتينية ، حسب المعادلة العامة التالية



تثبيت النتروجين الجوى بواسطة البكتريا المتكافلة (الرايزوبيا) مع النباتات البقولية

لوحظت عملية تثبيت النتروجين الجوى حيوياً ، بواسطة البكتريا المتكافلة مع النباتات البقولية ، منذ زمن بعيد (فى الفترة بين ٨٦-١٨٨٨ بواسطة Boussingault, Hellriegel and Wilfarth) ، ويتم التثبيت فى العقد البكتيرية Nodules ، التى تكونها البكتريا مع النبات المتكافلة معه، على جذره (عقد جذرية) Root-nodules أو ساقه (عقد ساقية) Stem-nodules، أو أوراقه (عقد ورقية) Foliar-nodules .

البكتريا المسئولة عن تكوين العقد تتبع فصيلة Rhizobiaceae [*] ، وتوجد هذه البكتريا فى التربة فى الحالة الحرة ، وهى عصوية الشكل (فى الحالة التكافلية تصبح متعددة الأشكال) ، سالبة لصبغة جرام ، هوائية ، وينتمى إلى هذه الفصيلة الأجناس التالية

١ - *Rhizobium* ، أنواع هذا الجنس سريعة النمو ، وينتمى إليه الأنواع المكونة للعقد على جذور كثير من البقوليات ، ويقسم هذا الجنس إلى أنواع ، حسب أنواع العوائل النباتية التى يتكافل معها ويكون بها عقداً [جدول ١٠ (٧) - ١ ، وشكل ١٠ (٧) - ١] .

جدول ١٠ (٧) - ١ : بعض الأنواع البكتيرية المكونة لعقد جذرية بالبقوليات .

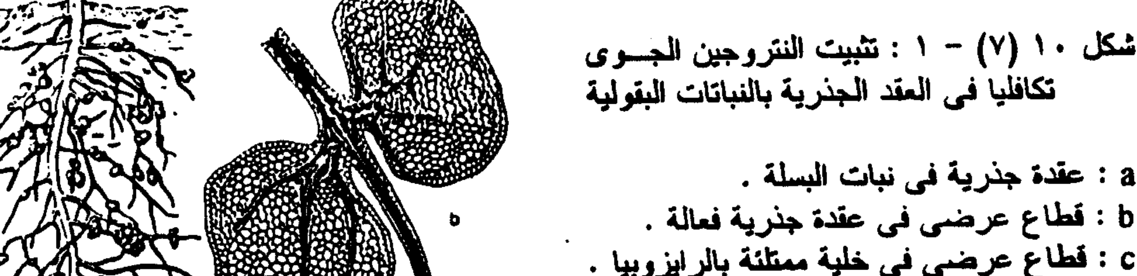
النوع البكتيرى	النبات العائل
Rhizobium leguminosarum biovar. *viceae*	الفول البلدى
R. meliloti	البرسيم الحجازى
R. phaseoli	الفاصوليا
R. trifolii	البرسيم المصرى
Bradyrhizobium japonicum	فول الصويا

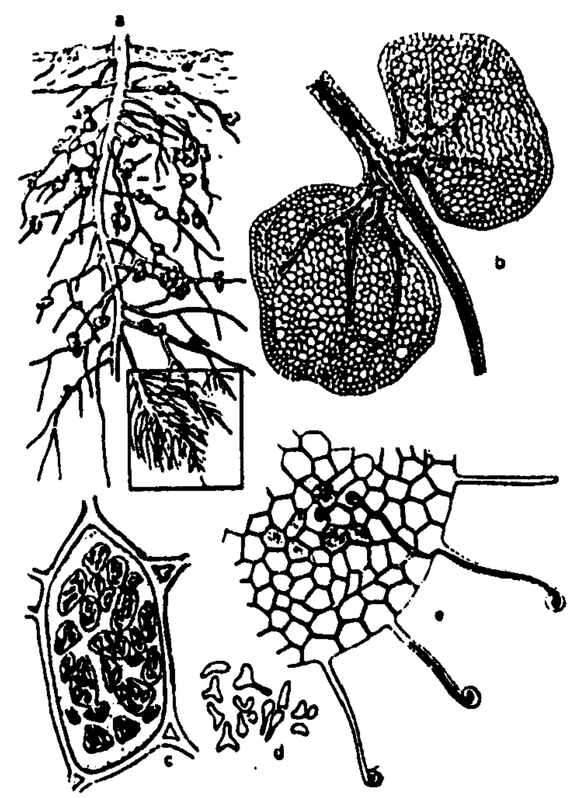
[*] أنظر تصنيف الجاميع البكترية ، فصيلة Rhizobiaceae ، الباب السابع ، الفصل الثاني .

٢- ***Bradyrhizobium*** ، أنواع هذا الجنس بطيئة النمو ، وينتمي اليها الأنواع المكونة للعقد على جذور بعض البقوليات ، مثل النوع *B. japonicum* الذى يكون عقداً بجذور نبات فول الصويا .

٣ - ***Sinorhizobium*** ، أنواع هذا الجنس سريعة النمو ، ومن أنواعها *S. fredii* التى تكون عقدا جذرية بنبات فول الصويا .

٤- ***Azorhizobium*** ، من أنواع هذا الجنس *A. caulinodans* ، وهى سريعة النمو وتكون عقدا بساق النبات البقولى السيسبان





شكل ١٠ (٧) - ١ : تثبيت النتروجين الجوى تكافليا فى العقد الجذرية بالنباتات البقولية

a : عقدة جذرية فى نبات البسلة .
b : قطاع عرضى فى عقدة جذرية فعالة .
c : قطاع عرضى فى خلية ممتلئة بالرايزوبيا .
d : أشكال البكتريا بداخل العقدة الجذرية ، وهى فى طور البكتيرويد .
e : مراحل تكوين أنبوبة وخيط العدوى ، خلال الشعيرة الجذرية حتى منطقة قشرة جذر الساق .

مراحل تكوين العقدة الجذرية : Stages of root-nodule formation

تتجه البكتريا العقدية نحو الشعيرات الجذرية التى تكونها بذور النبات البقولى المنزرع بالتربة ، فإذا كانت البكتريا متخصصة مع هذا النبات البقولى ، فإنها تتعرف عليه ، ويحدث الالتصاق بين البكتريا العقدية وبين الشعيرة الجذرية للنبات البقولى ، أما إذا كانت البكتريا غير متخصصة فلا يحدث الالتصاق .

ويتم التعرف Recognition بين البكتريا العقدية والنبات البقولى ، بما تفرزه الشعيرات الجذرية لذلك النبات من لكتينات Lectins ، واللكتينات عبارة عن جلايكوبروتينات قادرة على الإرتباط بتخصص مع المواد عديدة التسكر Polysaccharides الموجودة على أسطح خلايا البكتريا العقدية ، فإذا كانت البكتريا متخصصة مع النبات البقولى ، فإن اللكتينات الموجودة على أسطح جدر خلايا الشعيرات الجذرية ، تتحد مع عديدات التسكر المتخصصة لها ، الموجودة على أسطح جدر خلايا البكتريا العقدية ، وبذلك تلتصق البكتريا بالشعيرات الجذرية .

عقب الالتصاق ، يحدث إنحناء لطرف الشعيرة الجذرية فى مكان الالتصاق ، وتدخل البكتريا من هذا الانحناء لأنه أضعف نقطة بسطح الشعيرة ، وتنمو البكتريا وتتكاثر مكونة مجرى ممتد داخل الشعيرة الجذرية يتجه لأعلى نحو القشرة ، ويعرف هذا المجرى بخيط العدوى Infection thread ، وتحيط خلايا الجذر ذلك الخيط ، بغشاء من السليلوز والهميسليلوز والبكتين ، فيتكون مايعرف بأنبوبة العدوى Infection tube .

وعندما يصل النمو البكتيرى الى خلايا قشرة الجذر ، فإنه يخترقها ، ويغزو خلايا أخرى بالقشرة مجاورة ويتكاثر بها ، ويختفى خيط العدوى ، وتُحِث البكتريا خلايا القشرة المصابة على النمو ، بما تفرزه البكتريا من هرمونات غالباً سايتوكينات Cytokines ، فتنشط خلايا القشرة بالجذر وتتضاعف فى العدد ، وتتضخم فى الحجم ، وبذلك تتكون العقدة البكتيرية Root-nodule .

وعندما تتكون العقدة تظهر الحزم الوعائية فى المحيط الخارجى للعقدة ، التى تتصل بالحزم الوعائية الأصلية للجذر ، وعن طريق هذه الأوعية تنتقل المواد العضوية وغير العضوية من النبات الى العقدة ، وينتقل النتروجين المثبت فى العقدة الى النبات .

وتتحول البكتريا بداخل العقدة من الشكل العصوى ، إلى أشكال غير منتظمة تشبه حروف الهجاء TLYXV ، ويسمى هذا الطور البكتيرى النشط بطور البكتيرويد Bacteroids وفى طور البكتيرويد يتم تثبيت النتروجين الجوى ، لأن الخلايا البكتيرية فى هذا الطور تكون محتوية على إنزيم النتروجينيز ، كما أن لون النسيج النباتى المحتوى على البكتيرويد يكون احمراً وردياً Pink ، لاحتوائه على مادة الهيموجلوبين البقولى Leghemoglobin ، وبتقدم عمر العقدة (حتى قرب موعد تحللها) ، فإن لونها يخضر نتيجة تحول الهيموجلوبين إلى مادة البيلى فردين Biliverdins* الخضراء اللون .
وبعد عدة أسابيع من تكوين العقدة البكتيرية (حوالى ٧ أسابيع) ، تنفجر العقدة وتتحلل ، وتتحرر البكتريا العقدية من العقدة ، وتعود إلى المعيشة الحرة بالتربة .

دور الهيموجلوبين البقولى : Function of leghemoglobin

تتحكم جينات النبات البقولى فى تكوين الهيموجلوبين البقولى ، بينما تتحكم جينات بكتريا الرايزوبيا فى تكوين النظام الخاص بتثبيت النتروجين .
ويتشابه الهيموجلوبين البقولى فى نواحى كثيرة مع هيموجلوبين وميوجلوبين الثدييات ، فى كونه منظم لانتقال الأكسجين خلال خلايا النبات الى العقدة البكتيرية ، بارتباطه أو تحرره منه ، ويثبط عمله وجود CO الذى يمنع إرتباطه بالأكسجين ، وبالتالى تتضرر عملية التثبيت .
ويقوم الهيموجلوبين البقولى بتنظيم تركيز الأكسجين داخل العقدة البكتيرية ، إذ أن له قابلية كبيرة للارتباط بالأكسجين ، وعند زيادة ضغط الأكسجين داخل العقدة ، تحدث زيادة فى الهيموجلوبين المؤكسد ، وهذا يفسر قلة تركيز الأكسجين فى خلايا العقدة رغم زيادته بخارجها .
ويوجد الهيموجلوبين البقولى فى الأغلفة الغشائية المحيطة بالبكتيرويد ، وبذلك يصبح ملامسا لأسطح تلك البكتريا ، مما يزيد من كفاءته المتعلقة بتنظيم إحتياج خلايا البكتيرويد للأكسجين ، موفرا فى نفس الوقت الحماية الكافية من حدوث أى ضرر لإنزيم النتروجينيز من الأكسجين ، الحساس له .

---

* البيلى فردين صبغة تنتج من تحلل البيلى روبين ، وهذه تنتج من تحلل هيم الجلوبين البقولى .

العقد الساقية : Stem-nodules

بعض النباتات البقولية ، مثل نبات السيسبان *Sesbania rostrata* ، تكون عقدها البكتيرية على الساق ، وفى هذه العقد الساقية يتم تثبيت نتروجين الهواء الجوى بالتكافل مع بكتريا *Azorhizobium caulinodans* . وينمو نبات السيسبان بالمناطق المدارية الغدقة بأفريقيا والهند ، وتوجد العقد الساقية على السوق المغمورة بالمياه وعلى السوق التى بأعلى المياه .

ونظرا لأن ريزوبيا عقد الساق ، توجد فى أماكن قريبة من أماكن عملية التمثيل الضوئى ، فإن ريزوبيا الساق تمتاز على ريزوبيا الجذور ، فى أن نظامها الانزيمى من النيتروجينيز ، قادر على تحمل أكسجين الهواء الجوى ، ولايحتاج لوجود هيموجلوبين بقولى من النبات بالعقدة ، فهو يستطيع أن يثبت النتروجين الجوى فى وجود تركيزات مرتفعة من الأكسجين حول العقدة .

تثبيت النتروجين الجوى بواسطة البكتريا المتكافلة (الفرانكيا) مع النباتات غير البقولية

توجد مجموعة من النباتات الراقية ، غير بقولية ذات فلقتين ، يتكون على جذورها عقداً بكتيرية ، قادرة على تثبيت نتروجين الهواء الجوى ، من خلال المعيشة التكافلية مع بكتريا من جنس *Frankia* * التابعة لمجموعة الأكتينومايسيتات . وتسمى هذه النباتات بأسم النباتات الأكتينورايزيه Actinorhizal plants ، وذلك لتمييز تلك النباتات غير البقولية التى تكون عقداً مع الأكتينومايسيتات ، عن النباتات البقولية التى تكون عقداً مع الرايزوبيا ، التى تسمى بأسم النباتات الرايزوبية Rhizobial plants .

ومعظم هذه النباتات غير البقولية المكونة لعقد جذرية مع الفرانكيا ، نباتات أشجار خشبية ، منتشرة فى أماكن كثيرة من العالم ، فى أراضى فقيرة فى النتروجين ، وهى نباتات قادرة على تثبيت النتروجين مع البكتريا المتكافلة بكميات تتراوح بين ١٢ إلى ٢٠٠ كجم نتروجين / هكتار / سنة ، وذلك حسب نوع النبات وظروف التربة . ومن أهم الأشجار غير البقولية المثبتة لنتروجين الهواء الجوى تكافلياً مع الفرانكيا ، أشجار *Alnus, Casuarina, Coriaria, Hippophae* and *Myrica* .

وتحدث عدوى الجذور بالفرانكيا من التربة ، وذلك من خلال الشعيرات الجذرية للنبات ، كما فى حالة البقوليات ، وتمتد هيفات الفرانكيا بداخل الشعيرة حتى تصل الى القشرة ، حيث تتكون العقدة وتتم عملية تبادل المنفعة بين الفرانكيا والنبات العائل .

ويصل حجم العقدة البكتيرية المتكونة على جذور بعض النباتات ، إلى حجم كرة التنس ، كما فى نبات *Alnus glutinosa* ، وتحتوى العقدة على هيفات الفرانكيا التى تأخذ أشكالاً متعددة ، ومنها خيوط لها نهايات ذات أوعية صولجانية الشكل Club-shaped vesicles هى مكان تواجد إنزيم النتروجينيز ، وتحتوى العقدة على صبغة حمراء اللون هى الأنثوسيانين (بدلاً من الهيموجلوبين فى عقد ريزوبيا البقوليات) .

---

* أنظر تصنيف المجاميع البكتيرية – مجموعة الأكتينومايسيتات – الفرانكيا ، الباب السابع ، الفصل الثانى .

تثبيت النتروجين الجوى بواسطة السيانوبكتريا * المتكافلة مع بعض النباتات

تستطيع بعض أنواع السيانوبكتريا تثبيت نتروجين الهواء الجوى ، وهى فى حالة تكافل مع بعض النباتات ، مثل نبات الأزولا *Azolla* ، والأزولا سرخس مائى ، ينمو على سطح المياه الساكنة بالمناطق المدارية ، وتعيش سيانوبكتريا *Anabaena azollae* فى فجوات توجد على السطح السفلى لورقة نبات الأزولا ، حيث يعيش الأنابينا تكافلياً ، ويقوم بتثبيت النتروجين وتبادل المنفعة مع نبات الأزولا .

تمتاز السيانوبكتريا فى حالة معيشتها التكافلية مع نبات الأزولا ، بارتفاع محتواها من خلايا الهتيروسست (مكان إنزيم النتروجينيز) مقارنة بالسيانوبكتريا الموجودة فى الحالة الحرة ، وتقوم الأزولا بتثبيت حوالى ٢٥٠ كجم نتروجين / هكتار / سنة ، ويستفاد من ذلك فى إخصاب الأراضى المنزرعة أرزاً .

كما تستطيع أنواع من سيانوبكتريا النوستوك *Nostoc* ، تثبيت نتروجين الهواء الجوى تكافليا مع بعض النباتات الأخرى التى منها الحزازيات مثل *Anthoceros punctatus* و *Blasia pusilla* ، ومنها معراة البذور مثل *Cycas* and *Macrozamia* .
وفى النبات مغطى البذور *Gunnera macrophylla* ، يعيش سيانوبكتريا *Nostoc punctiforme* فى عقد توجد على الجزء السفلى من ساق النبات ، حيث يتم التكافل ، ويقوم النوستوك بتثبيت النتروجين .

تثبيت النتروجين الجوى بواسطة البكتريا والسيانوبكتريا * العائشة فى الحالة الحرة

القدرة على تثبيت النتروجين واسعة الانتشار ، بين كثير من أنواع بكتريا الأراضى وبكتريا المياه العائشة فى الحالة الحرة ، وإن كانت كمية التثبيت تختلف من نوع لآخر

* **من بين البكتريا الممثلة للضوء** ، تستطيع البكتريا الأرجوانية الكبريتية ، والأرجوانية غير الكبريتية ، وأغلب أنواع السيانوبكتريا ، تستطيع تثبيت نتروجين الهواء الجوى [جدول ١٠ (٧) - ٢] .

* **ومن بين البكتريا خليطة التغذية** تستطيع بعض أنواع البكتريا الهوائية ، والإختيارية ، وغير الهوائية ، والأركيوبكتريا ، تثبيت نتروجين الهواء الجوى [جدول ١٠ (٧) - ٢] .

ويمكن عزل بكتريا *Azomonas agilis* وبكتريا *Azotobacter chroococcum , A. vinelandii, Beijerinckia indica & Derxia gummosa* من كل من التربة والمياه مع التنمية الهوائية فى بيئة خالية من النتروجين .
كما تتواجد بكتريا *Azorhizophilus paspali & Azospirillum lipoferum* ، فى ريزوسفير وعلى أسطح جذور بعض النباتات ، حيث تستطيع تثبيت النتروجين فى الحالة الحرة أو بالتعاون مع جذر النبات النامى ، ويطلق على هذه البكتريا مثبته للنتروجين وهى فى حالة معيشة شبه تكافلية Semi-symbiotic .
وتستطيع البكتريا العائشة فى الحالة الحرة ، تثبيت كميه من النتروجين تتراوح بين ٢٠ الى ٥٠ كجم نتروجين / هكتار / سنة ، وهى كمية لها أهميتها الاقتصادية فى الإنتاج الزراعى .

---

* أنظر تصنيف المجاميع البكتيرية - مجموعة البكتريا الممثلة للضوء ، المنتجة للأكسجين - السيانوبكتريا ، الباب السابع ، الفصل الثانى .
وأنظر تثبيت النتروجين بواسطة السيانوبكتريا ، ص ١١٠٣ ومايليها .

جدول ١٠ (٧) : ٢ : بعض الأنواع البكتيرية المثبتة لنتروجين الهواء الجوى وهى عائشة فى الحالة الحرة .

هوائية	اختيارية للهواء	لاهوائية	ممثلة للضوء
Azomonas agilis *Azorhizophilus paspali* *Azospirillum brazilense* *Azospirillum lipoferum* *Azotobacter chroococcum* *Azotobacter vinelandii* *Beijerinckia indica* *Derxia gummosa* **Several Methylotrophs** *Xanthobacter autotrophicus*	*Bacillus polymyxa* *Klebsiella pneumoniae*	**مخمرة** *Clostridium* **منتجة للكبريتيد** *Desulfotomaculum* *Desulfovibrio* **منتجة للميثان** *Methanobacterium* *Methanosarcina*	**منتجة للاكسجين** معظم أنواع السيانوبكتريا **غير منتجة للأكسجين** *Chlorobium* *Chromatium* *Rhodobacter* *Rhodopseudomonas* *Rhodospirillum*

العناصر النادرة وتثبيت النتروجين الجوى

تلعب العناصر النادرة مثل البورون ، الحديد ، الكوبالت ، الموليبدنيوم ، النحاس ، النيكل ، دوراً أساسيا فى عملية تثبيت النتروجين الجوى حيويا ، وفى تكوين العقدة البكتيرية ، وغياب هذه العناصر يفقد البكتريا قدرتها على تثبيت النتروجين .

* فمن هذه العناصر ، الموليبدنيوم ، الذى يدخل فى تركيب الانزيمات المثبتة للنتروجين : النتروجينيز ونتروجينيز ريداكتيز .
  وفى بعض أنواع البكتريا قد يحل الفاناديوم محل الموليبدنيوم فى تركيب إنزيم النتروجينيز ، كما فى بكتريا *Xanthobacter autotrophicus* .
* ومنها النيكل ، الذى يدخل فى تركيب إنزيم الهيدروجينيز ، المشارك فى كثير من حالات التثبيت الحيوى .
* ومنها الكوبالت والنحاس والبورون ، وهى عناصر ضرورية لتكوين العقدة البكتيرية .
  ويدخل الكوبالت فى تركيب قرين انزيم فيتامين ب١٢ Vitamin B_{12} coenzyme ، الذى يدخل فى نشاط إنزيمات Nucleotide reductase & Methyl malonyl mutase ، الهمة فى تكوين العقدة البكتيرية ، وأثناء عملية التثبيت .

* ومنها الحديد ، الذى يدخل فى تركيب إنزيم النتروجينيز ، وفى تركيب الهيموجلوبين البقولى الموجود بالعقدة البكتيرية .

النظام الانزيمى لتثبيت النتروجين الجوى

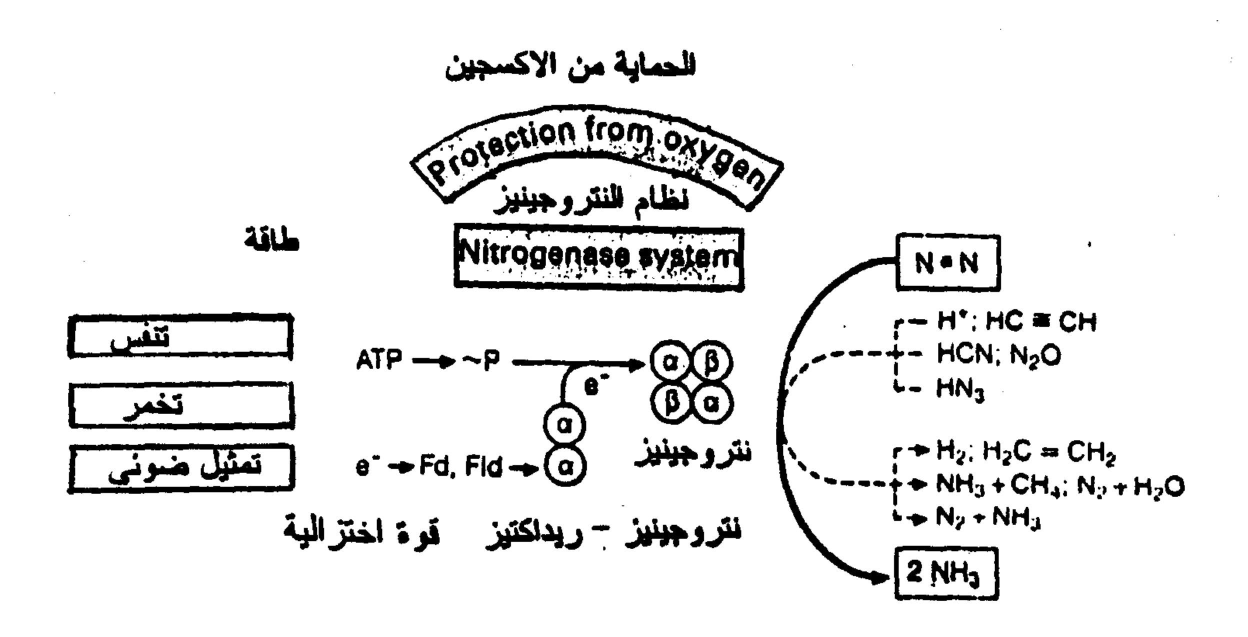
يتم تثبيت النتروجين الجوى حيوياً ، بواسطة نظام انزيمى خاص ، يوجد بخلية البكتريا المثبتة للنتروجين ، يسمى نظام النتروجينيز Nitrogenase system [شكل ١٠ (٧) - ٢] ، ويتكون هذا النظام من مكونين مترابطين ، هما

١ - النتروجينيز Nitrogenase

٢ -نتروجينيز - ريداكتيز Nitrogenase-reductase

ويقع كلا المكونين فى سيتوبلازم خلية البكتريا ، وهما مكونين شديدا الحساسية للأكسجين ، لذا يتم التثبيت فى حالة البكتريا الهوائية ، فى وجود حماية مناسبة للنظام الانزيمى من الأكسجين ، كوجوده فى حويصلة خاصة كالهتيروسست فى السيانوبكتريا ، أو كوجوده مجاوراً للهيموجلوبين البقولى فى العقد البكتيرية المثبتة للنتروجين .

ويتكون كلا من المكونين من بروتين ذو جهد أكسدة واختزال سالب ، ويدخل فى تركيب البروتين الحديد والكبريت ، ويمثل انزيم النتروجينيز المكون الأكبر من النظام الانزيمى ويتركب النتروجينيز من أربعة تحت وحدات(2α & 2β) [شكل ١٠ (٧) - ٢] ، وتحتوى كل تحت وحدة على ذرة مولبدنيوم .



شكل ١٠ (٧) - ٢ : رسم تخطيطى عام يوضح نظام تثبيت نتروجين الهواء الجوى بيوكيميائيا

Fd : فيرودوكسين Fld : فلافودوكسين

تسرى الالكترونات إلى بروتين النظام الانزيمى ، عن طريق الفيرودوكسين Fd والفلافودوكسين (Fld) [شكل ١٠ (٧) - ٢] ، الى إنزيم الريداكتيز أولا ، ومن ثم إلى إنزيم النتروجينيز ، مع استهلاك ١٦ مول ATP لكل مول N_2 ، ويقوم مولبدنيوم النتروجينيز بإختزال N_2 الى NH_3 ، مع إختزال $2H^+$ الى H_2 .

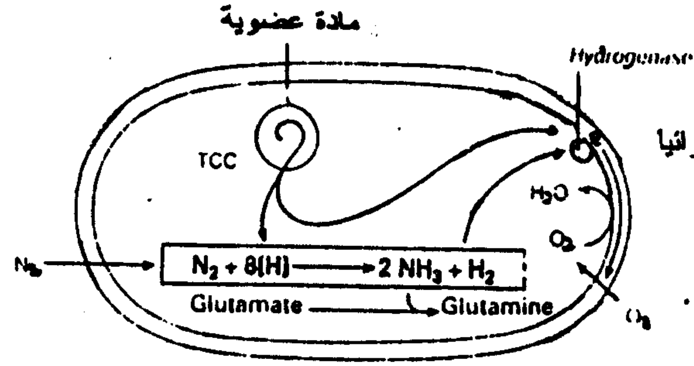
نظام النتروجينيز ليس قادرا فقط على اختزال نتروجين الهواء الجوى ، بل قادرا أيضا على اختزال مركبات عديدة منها الاستيلين ، السيانيد ، NO_2 ، الأزيد ، النتريل والبروتونات ، ولذلك فإنه يمكن عمليا تقدير كمية النتروجين المثبتة حيويا ، بتقدير الكمية المكافئة من اختزال الاستيلين Acetylene إلى إثيلين Ethylene ، باستخدام جهاز التحليل الكروماتوجرافى الغازى Gas chromatography .

الطاقة فى صورة ATP اللازمة لتثبيت النتروجين حيويا ، تأتى من التنفس أو التخمر ، أو من التمثيل الضوئى [شكل ١٠ (٧) - ٢ و ٣] ، وتحتاج عملية الاختزال الى كمية كبيرة نسبيا من ATP ، لذلك فإنه إذا نميت بكتريا مثبتة لنتروجين الهواء الجوى فى مزارع بها مصدر الكربون محدود ، فإنه يلزم تزويد هذه المزارع ، بإمداد من الأمونيوم ، حتى نحصل على نمو بكتيرى وفير .

دور إنزيم الهيدروجينيز : Role of hydrogenase

تحتوى معظم أنواع البكتريا المثبتة للنتروجين الجوى هوائيا على انزيم الهيدروجينيز ، وذلك فيما عدا بكتريا الرايزوبيا ، لوجودها أثناء التثبيت ، مجاورة لنظام آخر يحميها من تأثير الأكسجين ، هو الهيموجلوبين البقولى .

يوجد إنزيم الهيدروجينيز فى الأغشية الخلوية للبكتريا ، ويقوم هذا الإنزيم بدور مساعد فعال فى حماية إنزيم النتروجينيز المثبت للنتروجين ، من التأثير الضار لأكسجين الهواء الجوى ، حيث يقوم الهيدروجينيز بإختزال أى أكسجين ينفذ الى الخلية ، وتحويله إلى ماء ، بواسطة H_2 الناتج من تفاعلات التثبيت الحيوية بعد تنشيطه . [شكل ١٠ (٧) - ٣] ، وبذلك تنزع سمية غاز الأكسجين .



شكل ١٠ (٧) - ٣ : تثبيت النتروجين الجوى هوائيا

لاحظ :

١ - الأيض الهدمى لمادة التفاعل .
٢ - تثبيت نتروجين الهواء الجوى بالنتروجينيز .
٣ - تحول NH_3 إلى مركبات عضوية .
٤- دور انزيم الهيدروجينيز فى حماية انزيم النتروجينيز

تنظيم عملية تثبيت النتروجين الجوى : Regulation of nitrogen fixation

إنزيم النتروجينيز إنزيم مستحث ، ولاتنتجه معظم أنواع البكتريا المثبتة للنــــتروجين ، إلا عند غياب مصدر نتروجينى مناسب للنمو بالبيئة . وتكبح أيونات الأمونيا عملية تخليق إنزيـــم النتروجينيز .

وتلعب إنزيمات Glutamine synthetase and Glutamic synthase دورا هاما فـــى عملية التنظيم ، إذ تقوم هذه الإنزيمات بتحويل أيونات الأمونيوم عندما تتواجد بتركيزات قليلـــة الى مركبات عضوية ، بينما يكبح وجود التركيزات العالية من أيونات الأمونيوم تخليـــق هــذه الانزيمات ، وبالتالى يؤدى ذلك إلى كبح تخليق إنزيم النتروجينيز .

نقل الجين المثبت لنتروجين الهواء الجوى

Genetic transfer of the nitrogen fixation gene (*nif* gene)

أصبح من الممكن نقل الجين المثبت لنتروجين الهواء الجوى (***nif* gene**) ، من بكتريـــا مثبتة لأخرى غير مثبتة ، وذلك بإجراء التزاوج المباشر بين الخلايا ، مثل ماحدث بنجاح بيـــن بكتريا *Klebsiella pneumoniae* المثبتة للنتروجين ، وبكتريا *E. coli* غير المثبتة للنتروجين .

وقد دفع ذلك بعض الباحثين الى محاولة نقل الجين المثبت للنتروجين من خلايا بدائيات النواة ، إلى خلايا حقيقيات النواة كالنبات . ولكن قابل ذلك صعوبات جمـــــه ، مـــازالت تحـــت الدراسة والمعالجة حتى الآن .

ويعود السبب فى تلك الصعوبات ، إلى أن عملية تثبيت النتروجين فى حقيقيات النـــــواة تحتـــاج بجانب نظام النيتروجينيز الإنزيمى ، إلى وجود نظم أخرى مساعدة فى عملية التثبيـــــت ، منـــها نظام بروتينى متخصص يحتوى على الحديد والكبريت ، ونظم مناسبة لحماية إنزيم النتروجينـــيز من الأكسجين أثناء عملية التثبيت ، ونظم منظمة لعملية التثبيت ، مثل تلك النظم المنظمة لتخليق إنزيم Glutamine synthetase ، إلى غير ذلك من النظم الحيوية .

﴿الباب العاشر – الفصل الثامن﴾
التخليق الحيوى لوحدات البناء ذات الوزن الجزيئى الصغير

المحتويـــات

﴿الباب العاشر - الفصل الثامن﴾
التخليق الحيوى لوحدات البناء ذات الوزن الجزيئى الصغير
Biosynthesis of some Low Molecular Weight Building Blocks

تخليق الأحماض الأمينية

تستطيع معظم الأحياء الدقيقة وكذلك النباتات، تخليق الأحماض الأمينية الاحدى وعشرون اللازمة لبناء البروتين، ويأتى الهيكل الكربونى اللازم للحامض الأمينى من النواتج الوسطية لدورات الأيض الغذائى التى يجريها الكائن، وتدخل مجموعة الأمين فى ذلك الهيكل الكربونى، ، عن طريق الأمينة (إضافة مجموعة أمين) Amination، أو عن طريق انتقال مجاميع الأمين Transamination .

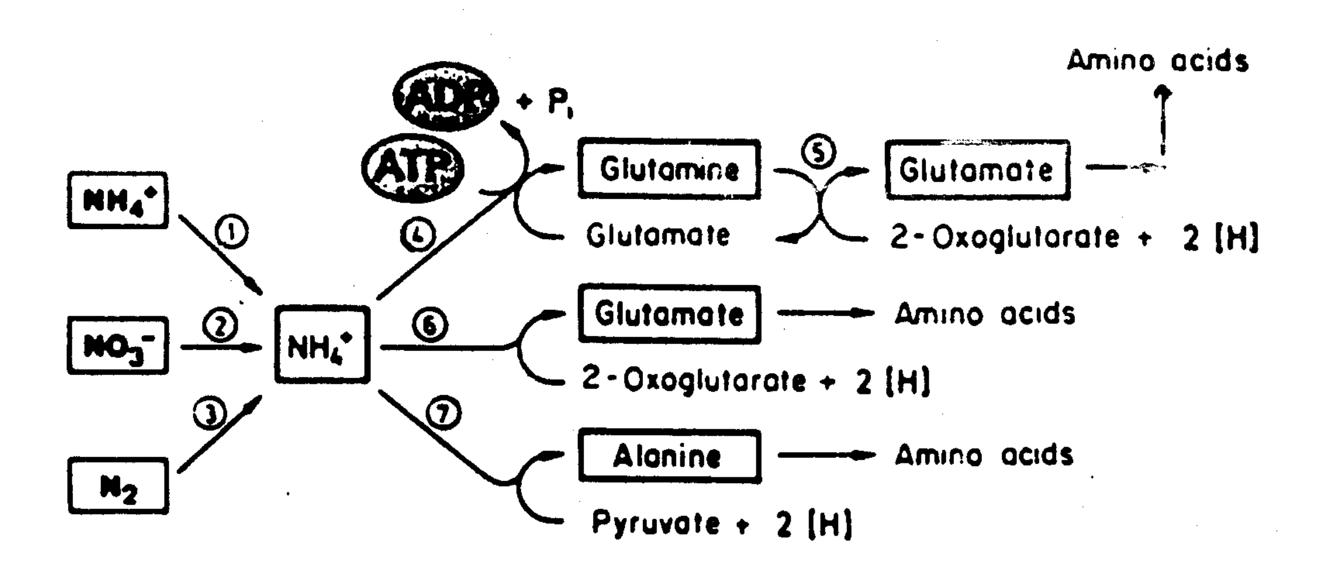
الأمينة : Amination

يقصد بالأمينه، إدخال مجموعة أمين من أيونات الأمونيوم الحرة الموجودة بالوسط، للحامض العضوى، فيتكون الحامض الأمينى المقابل .

وتأتى أيونات الأمونيوم من الأمونيا الناتجة من اختزال النتروجين الجزيئى أو النترات أو النتريت، كما هو موضح بشكل [١٠ (٨) - ١، خطوات ①، ②، ③] .

وعدد قليل من الأحماض الأمينية، هو الذى يتخلق مباشرة بنظام الأمينة، وعادة مايحدث تحول النتروجين الأمونيومى إلى أحماض عضوية أمينية بواسطة البكتريا والنباتات، عندما تكون نسبة أيونات الأمونيوم الميسرة، الموجود بالوسط، قليلة (أقل من ١ ملليمول/لتر)، وخاصة أثناء عملية التثبيت النتروجينى .

ويوضح الشكل [١٠ (٨) - ١] - خطوات ④، ⑤، ⑥، ⑦] الطرق المتعددة، الخاصة بتخليق الأحماض الأمينية، بنظام الأمينه .



شكل ١٠ (٨)- ١ : أهم دورات تمثيل النتروجين .

(1) - تأخذ الخلية أيونات الأمونيوم مباشرة من الوسط الغذائى .
(2) - تتحول أيونات النترات ألى أيونات أمونيوم بإنزيم نترات ريداكتيز .
(3) - يتحول النتروجين الجزيئى الى أيونات أمونيوم عن طريق التثبيت النتروجينى .

(4 ، 5) - دخول نتروجين الأمونيوم بالأحماض العضوية وتحولها الى أحماض أمينية ، كما فى تحول الجلوتاميك الى جلوتامين ، بإنزيم جلوتامين سنتتيز ، مع استهلاك ATP .
فى تفاعل رقم (٥) ، قد تنتقل مجموعة الأميد Amide من الجلوتامين الى ٢- أوكسوجلوتاريك بإنزيم جلوتاميك سنثيز .

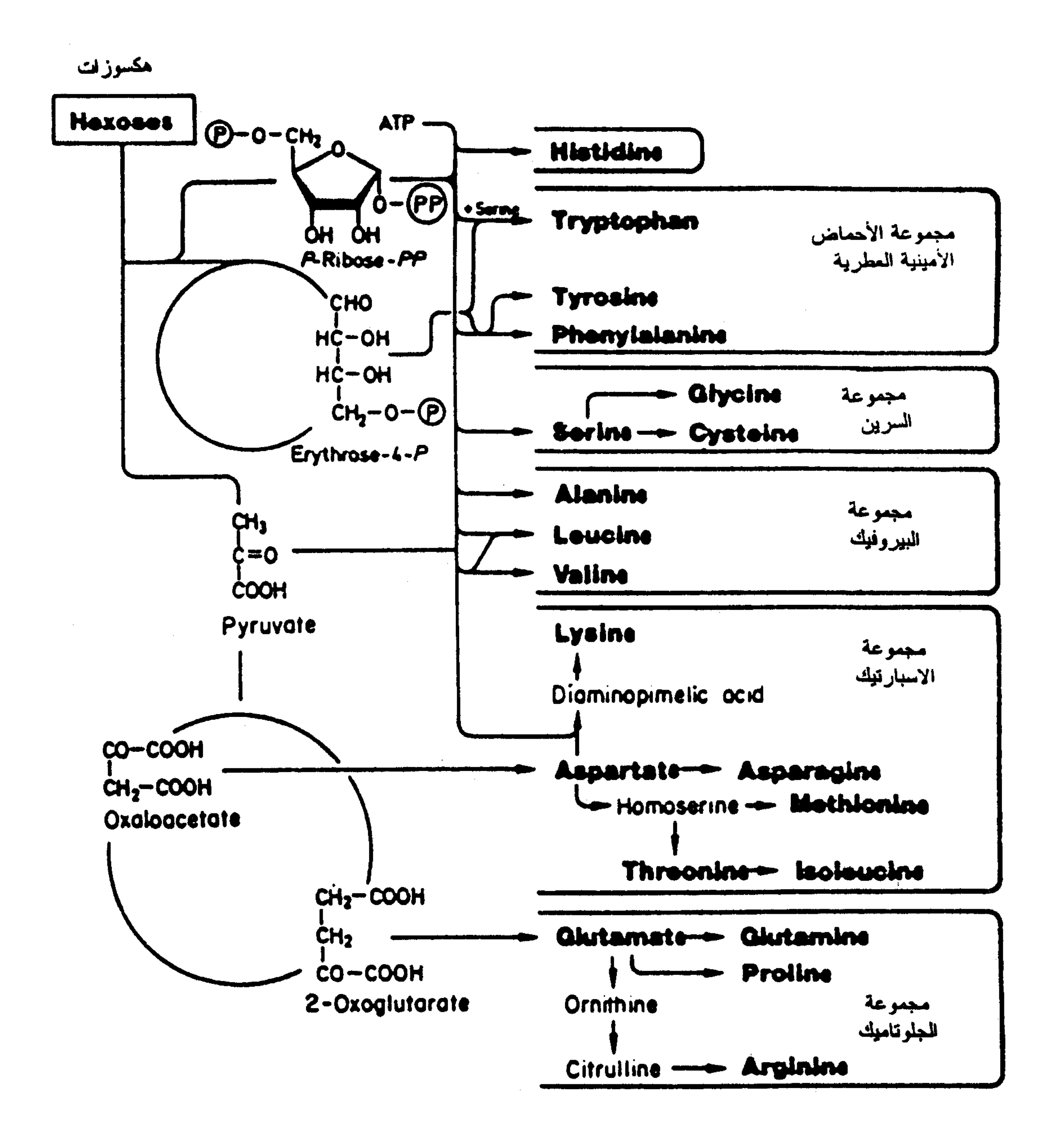
(6 ، 7) - تحول الأحماض العضوية الى أحماض أمينية ، بالأمينة الاختزالية المباشرة Reductive deamination ، وبدون استهلاك ATP ، كما فى تحول ٢- أوكسوجلوتاريك والبيروفيك الى جلوتامين والانين بإنزيم جلوتاميك ديهيدروجينيز يسارى ، وإنزيم الانين ديهيدروجينيز يسارى ، على التوالى

انتقال مجموعة الأمين : Transamination

تحصل معظم الأحماض الأمينية ، على مابها من مجموعات الأميـن ، عـن طريـق انتقال مجاميع الأمين الى الحامض العضوى المقابل ، وحامض الجلوتاميك الذى يشكل أكثر مـن ٥٠% من مجموع الأحماض الأمينية الموجودة بالسيتوبلازم الخلوى ، يمثل المسـتودع العـام للأحماض الأمينية بالخلية .

يبدأ تمثيل الأحماض الأمينية اللازمة للخلية البكتيرية ، من مركبات بسيطة ، ناتجة من التمثيـل الغذائـى الوسـطى ، مثـل البـيروفيك ، ٢-أوكسـوجلوتاريك ، أوكسـال اسـتيك (أو الفيوماريك) ، إرثروز - ٤- فوسفات ، رايبوز-٥- فوسـفات ، و ATP . وفـى أغلـب الأحماض الأمينية ، فإن إدخال مجموعة الأمين بالمركب العضوى ، تتم بإنتقال مجموعة الأمين فى خطوة التخليق الأخيرة .

ويمكـن تقسـيم الأحمـاض الأمينيـة الـى مجموعـات ، وذلـك حسـب دورات تخليقـها [شكل ١٠ (٨) - ٢] ، وتتضمن كل دورة عددا من الخطوات وأعدادا مختلفة من الانزيمات .



شكل ١٠ (٨) - ٢ : شكل تخطيطى لتخليق الأحماض الأمينية اللازمة لبناء البروتينات ، من النواتج الوسطية لدورات الايض الغذائى .

ومن الشكل يمكن تقسيم الأحماض الأمينية الى مجاميع حسب نظام تخليقها .

تخليق النيوكليوتيدات

البيورين والبريميدين ، هى وحدات بناء الأحماض النووية ، إضافة الى أنها توجد فى كثير من المرافقات الانزيمية ، كما تعمل فى تنشيط ونقل مجاميع الأمين والسكريات والليبيدات ومكونات الجدار الخلوى .

وتتبع نيوكليوتيدات البيورين فى تخليقها ، مساراً عاماً مشتركاً ، ويبدأ هذا المسار فى التفرع عند مستوى الأينوسين مونوفوسفات Inosine monophospate إلى أدينايلات وجوانايلات Adenylate and Guanylate ، وكذلك فإن نيوكليوتيدات البريميدين ، تسلك فى تخليقها مساراً واحداً يتفرع عند حامض اليوريدليك Uridylic acid .

يأتى الجزء البنتوزى Bentose moiety المكون للنيوكليوتيده ، من رايبوز - ٥ - فوسفات ، ويتم ذلك بطريقتين

* بالأكسدة ، وذلك من جلوكوز - ٦ - فوسفات عبر دورة بنتوز - الفوسفات
* بدون أكسدة ، وذلك من فركتوز - ٦ - فوسفات وجلسرالدهيد - ٣ - فوسفات عبر دورة بنتوز - الفوسفات ، خلال تفاعلات ترانز الدوليز - ترانز كيتوليز *

وعند مستوى الرايبونيوكليوتيد ، فانه يتم إختزل الرايبوز الى دى أوكسى رايبوز بعدة طرق حسب ظروف الميكروب والوسط .

تخليق الليبدات

تشكل الليبدات والدهون مكونات رئيسية بالغشاء السيتوبلازمى للخلية والجدار الخلوى، كما أنها تستخدم بالخلية كمصادر احتياطية للطاقة . ويسود فى لبيدات البكتريا الأحماض الدهنية المشبعة ذات السلاسل الكربونية الطويلة (ك١٤ - ك١٨) وكذلك الأحماض الدهنية الأحادية غير المشبعة ، بينما يقل بها وجود الأحماض الدهنية العديدة - غير المشبعة ، والستيرويدات والجلسريدات الثلاثية .

وتلعب الليبدات المركبة دوراً هاماً فى حياة الخلية ، وهى تتركب من جلسرول ، ذو مجموعتين من الهيدروكسيل مؤسترة مع أحماض دهنية ، ومجموعة الهيدروكسيل الثالثة مؤسترة مع فوسفات أو سكر ، كما أن مجموعة الفوسفات بدورها مؤسترة مع جلسرول ، أو إيثانول أمين Ethanolamine ، أو اينوسيتول ، أو سيرين Serine ، لتكوين المركبات التالية على التوالى

1) Phosphatidyl glycerol,
2) Phosphatidyl ethanolamine
3) Phosphatidyl inositol
4) Phosphatidyl serine

---

* فى هذا التفاعل الذى يتم بواسطة Transaldolase-Transketolase فإن بنتوز الفوسفات يعطى ٢ جزىء فركتوز - ٦ - فوسفات ، وواحد جزىء جلسرالدهيد - ٣ - فوسفات ، ثم يتكثف الفوسفات الثلاثى الى سكر سداسى (أنظر دورة فوسفات البنتوز ، ص ٧٦٨ ومايليها) .

ويسود مركب ١ و ٢ فى معظم أنواع البكتريا ، وقليلاً مايوجد المركب رقم ٣ أو ٤ .

يتضمن تخليق الأحماض الدهنية طويلة السلسلة الكربونية ، عمليات إختزال وأكسدة لمجاميع الاسيتايل ، حيث تبدأ الخطوات بحدوث تنشيط لمجموعة الميثايل فى مركب اسيتايل CoA وكربكسلة ، لتكوين مركب مالونيل CoA ، حسب المعادلة

$$CH_3 - CO \sim S\,CoA + CO_2 + ATP + H_2O \longrightarrow HOOC\text{-}CH_2\text{-}CO\sim S\,CoA + ADP + Pi$$

أسيتايل CoA　　　　مالونيل CoA

ثم تتحرر مجموعة الكربوكسيل (فى صورة ثانى أكسيد كربون) فى تفاعلات التكثيف التالية ، وتتخلق الأحماض الدهنية فى سلسلة من الخطوات ، تتم بمجموعة من الانزيمات ، حسب المعادلة العامة التالية

$$CH_3 - CO \sim SCoA + 7\ Malonyl - CoA + 14\ NADPH_2 \longrightarrow$$

$$Palmityl - CoA + 14\ NADP + 7\ CO_2 + 7\ CoA + 7\ H_2O$$

References **مراجع الباب العاشر**

Dawes I.W. and I.W. Sutherland (1992). Microbial Physiology, 2nd Ed., Blackwell Scientific Publications, Oxford, London.

Doelle H.W. (1975). Bacterial Metabolism. 2nd Ed. Academic Press, New York.

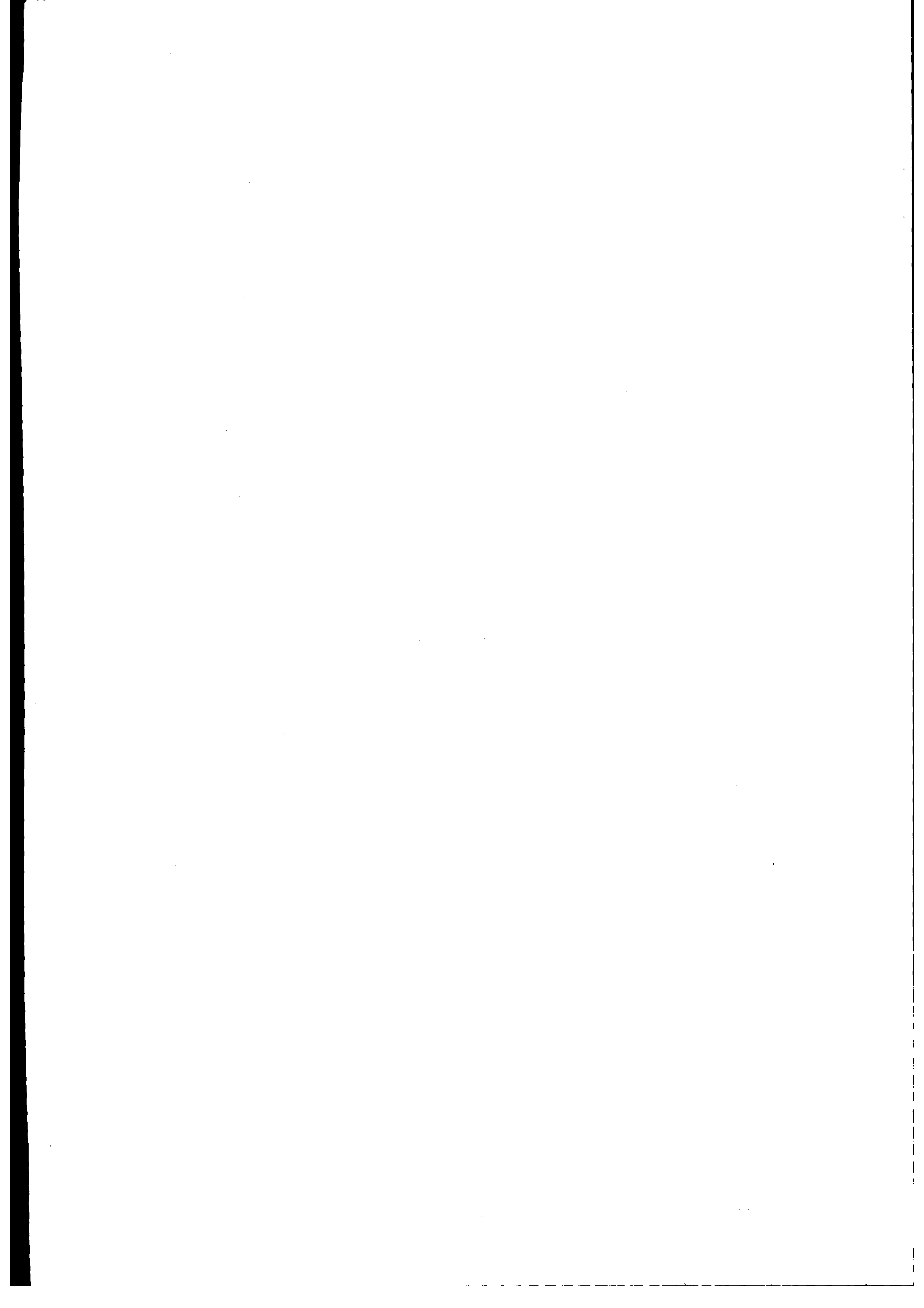
Jones C.W. (1982). Bacterial Respiration and Photosynthesis. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Neidhardt F.C.; J.L. Ingraham and M. Schaechter (1990). Physiology of the Bacterial Cell. A Molecular Approach. Sinauer Associates Inc., Sunderland, Maryland, USA.

Pelczar M.J.Jr.; E.C.S. Chan and N.R. Krieg (1986). Microbiology. McGraw-Hill Book Co. Inc., New York.

Schlegel H.G. (1995). General Microbiology, Cambridge Univ. Press, New York.

Stryer L. (1990). Biochemistry. Freeman, San Francisco, USA.



(الباب الحادى عشر)
تخمرات ذات طابع خاص

المحتويات

الموضوع	الصفحة

المحتويات

(الباب الحادى عشر)

تخمرات ذات طابع خاص
Special Fermentations

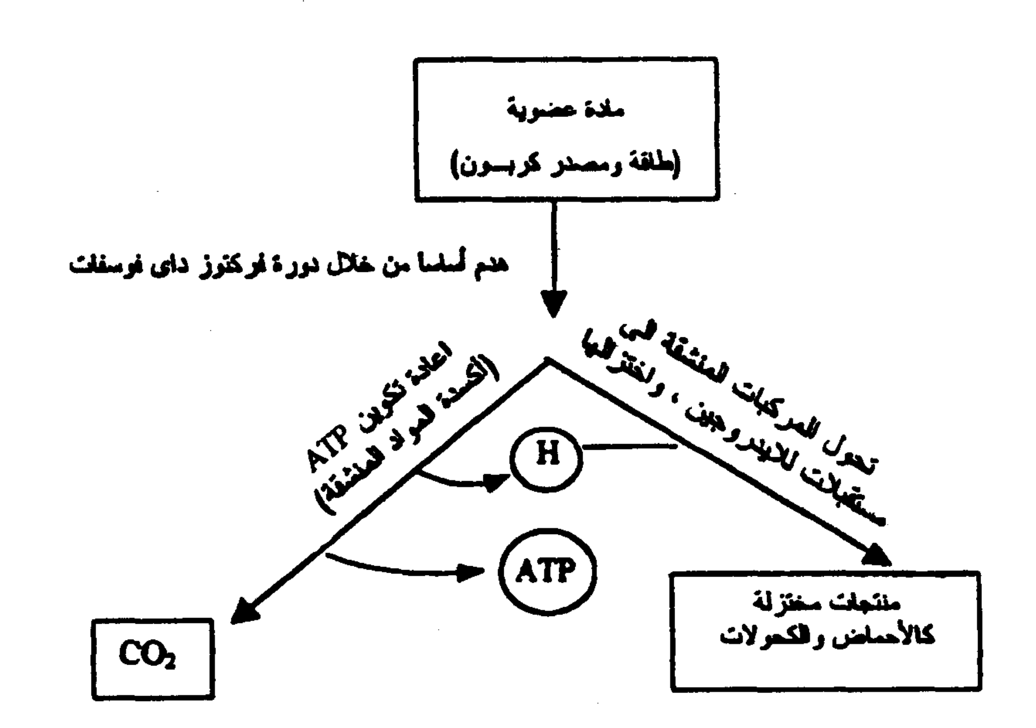
مقدمـــــة

هناك ثلاث طرق أساسية كما ذكر سابقاً ، تحصل بواسطتها الخلية الميكروبيـــة علـــى الطاقة اللازمة لها فى صورة ATP ، هى التنفس والتمثيل الضوئى والتخمـــر ، وأبســط هــذه الطرق بالنسبة للميكروبات ، هو التخمر .

ويعرف التخمر Fermentation ، بأنه الأيض الغذائى الذى ينتـــج عنـــه طاقـــة مـــن استخدام مركبات عضوية ، تعمل كمانحة وكمستقبلة للإيدروجين .

التفاعلات التى تؤدى الى فسفرة ADP هى تفـــاعلات تأكســـدية ، والنـــاتج النـــهائى للمركبات الكربونية المؤكسدة هو ثانى أكسيد الكربون ، وتتضمن خطوات أكسدة المادة العضوية نزع الايدروجين منها ، وانتقاله إلى مرافق إنزيمى مثل NAD الذى يتحـــول الـــى $NADH_2$ ، وتعمل المركبات الوسطية الناتجة من هدم المادة العضوية ، كمستقبل للإيدروجيـــن مـــن الـــ $NADH_2$ ، ثم تفرز من الخلايا النواتج المختزلة التى تكونت من إعادة بناء الـــ NAD .

والرسم التخطيطى التالى [شكل ١١-١] ، يوضح ماينتج عن هدم المـــادة العضويـــة بالتخمر ، من إنطلاق طاقة فى صورة ATP ، وتكون منتجات مختزلة وغاز CO_2 .



شكل ١١-١ : رسم تخطيطى لتحلل المادة العضوية مع تكون ATP ومنتجات مختزلة وغاز CO_2 .

وأثناء تخمر الكربوهيدرات والمواد الأخرى ، ينتج من التخمر أكثر من منتج نـهائى ، بعضها أكثر إختزالاً من مادة التفاعل الأصلية ، مما يعنى أن تأكسد مادة التفاعل أثناء التخمـر ، هو تأكسد جزئى ، أى أكسدة غير كاملة للمادة ، كما أن هذه النواتج قد تنتـج بصـورة فرديـة Singly produced ، أو بصورة خليطة Mixture تضم أكثر من مادة .

ومن المواد النهائية الناتجة من التخمر بواسطة الميكروبات

- كحولات مثل الايثانول ، البروبانول ، البيوتانول
- أحماض مثل الفورميك ، الأستيك (الخليك) ، البروبيونيك ، البيوتريك ، السكسنيك ، اللاكتيك ، الكابرويك
- أسيتون ، بيوتان ديول
- غازات مثل CO_2 , H_2

وتبعاً للمنتج السائد فى التخمر ، فإن التخمرات تقسم حسب نواتجها النهائية السـائدة ، إلى تخمر كحولى ، تخمر لاكتيكى ، تخمر بروبيونيكى ، بيوتريكى ، فورميكى ، خليكـى ... الخ .

وبالاضافة إلى البكتريا الهوائية ، فإن هناك العديد من البكتريا اللاهوائيـة الاختياريـة والحتمية ، التى تقوم بإجراء التخمرات فى غياب أو فى وجود الأكسجين ، لكن دون مشـاركة من الأكسجين فى عملية التخمر .

إعادة تخليق ATP بالتخمر : ATP generation by fermentation

أثناء تخمر الجلوكوز بواسطة الكائنات الدقيقة ، يتكون من ١ إلى ٤ جزيئات ATP

جلوكوز ⟵ نواتج تخميرية

من ١ - ٤ ADP + ١-٤ Pi ⟵ ١-٤ ATP

وفيما يلى ، أهم تفاعلات الفسفرة التى تتم على مستوى مادة التفاعل Substrate-level phosphorylation ، لانتاج ATP

٣,١ داى فوسفوجلسرات ⟵ (فوسفوجلسرات كاينيز ؛ ADP ⟵ ATP) **٣ فوسفوجلسرات** .... (١)

فوسفوإينول بيروفات ⟵ (بيروفات كاينيز ؛ ADP ⟵ ATP) **بيروفات** .... (٢)

اسيتايل فوسفات أو بيوتيرايل فوسفات ⟵ (أسيتات كاينيز ؛ ADP ⟵ ATP) **أسيتات أو بيوتيرات** .... (٣)

التفاعل رقم (١) هو الشائع بين الكائنات المجهرية .

وفى التفاعل رقم (٢) تستخدم الميكروبات البيروفات أو المركبات المخلقة من أسيتايل CoA كمستقبلات للايدروجين ، مع تكون مركبات مثل ايثانول ، اسيتون ، بروبانول ، بيوتانول ، ٢-٣ بيوتلين ديول ، بيوتيرات ، أسيتات ، لاكتات ، كابروات Caproate ، وغازات مثل CO_2, H_2 .

وفى التفاعل رقم (٣) ، فإن استخدام الاسيتات كاينيز ، يمكن الميكروب من تخليق المزيد من ATP ، وينتج الاسيتايل فوسفات من اسيتايل CoA وفوسفور غير عضوى بواسطة انزيم Phosphotransacetylase ، كما يلى :

Acetyl CoA + Pi ⟶ (***Phosphotransacetylase***) **Acetylphosphate + CoA**

كما ينتج اسيتايل فوسفات من السكريات المفسفرة (مثل فركتوز - ٦ - فوسفات وزايليلوز - ٥ - فوسفات) ، بتفاعلات تتم بانزيم Phosphoketolase .

ومن التخمرات ذات الطبيعة الخاصة ، التى تتم بواسطة الكائنات الدقيقة ، مايلى

١ – التخمر الكحولى (الايثانولى) Alcoholic fermentation

يقوم عدد كبير من الكائنات الدقيقة بتخمير السكريات الى إيثانول ، وتعتبر الخمائر خاصة النوع *Saccharomyces cerevisiae* ، المنتج الأساسى للإيثانول تحت ظروف لاهوائية، كما أن الكثير من الفطريات ، ومن البكتريا الاختيارية للهواء واللاهوائية ، يمكنها انتاج الايثانول كمنتج أساسى أو ثانوى ، أثناء تخمير البنتوزات أو الهكسوزات .

أ – تكوين الايثانول بواسطة الخمائر

تقوم خميرة *Saccharomyces cerevisiae* بإنتاج الايثانول من الجلوكوز لاهوئياً ، عن طريق دورة فركتوز – ١ ، ٦ – داى فوسفات ، وذلك حسب المعادلة العامة التالية

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow \underset{\text{بيروفيك}}{(2CH_3\text{-}CO\text{-}COOH)} \longrightarrow \underset{\text{إيثانول}}{2CH_3-CH_2OH} + 2\,CO_2$$

ويتم تحول البيروفيك الى إيثانول فى خطوتين رئيسيتين

١ – تحول البيروفيك الى اسيتالدهيد بنزع مجموعة (COO) وبمشاركة ثيامين بيروفوسفات

$$CH_3\text{-}CO-COOH \xrightarrow{\textit{Pyruvate decarboxylase}} CH_3-CHO + CO_2$$

٢– اختزال الاسيتالدهيد الى إيثانول فى وجود $NADH_2$ الذى يعمل كمانح الإيدروجين

$$CH_3-CHO \xrightarrow[NADH_2 \;\rightarrow\; NAD]{\textit{Alcohol dehydrogenase}} CH_3-CH_2OH$$

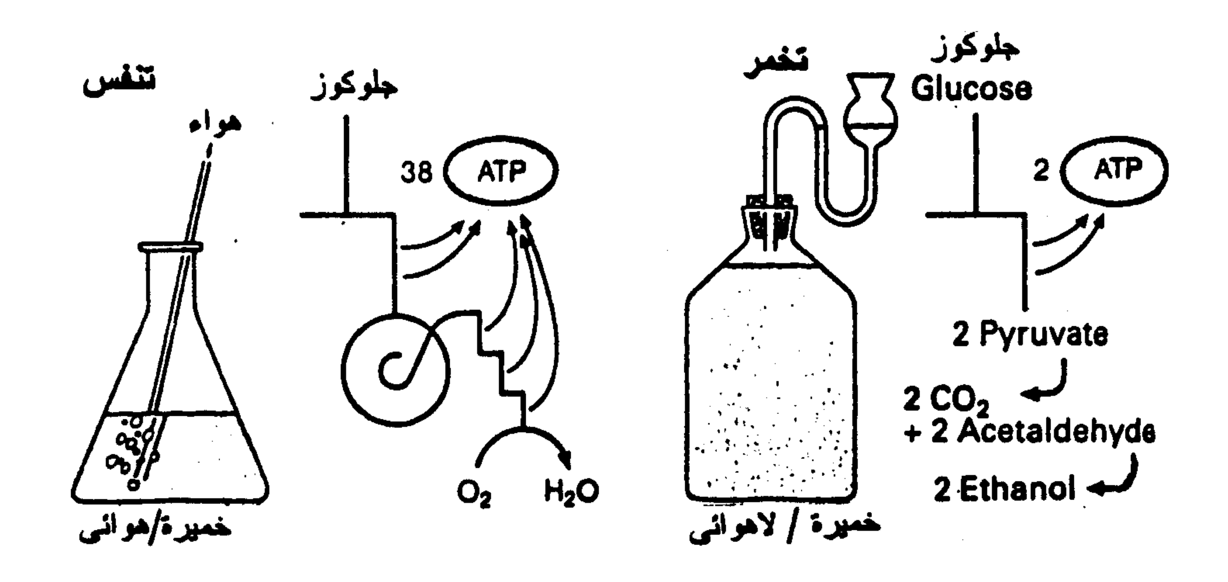
التهوية وتأثير باستير

أوضح باستير أن انتاج الايثانول من السكر بواسطة الخميرة تحت الظروف اللاهوائية، يزيد ٢٠ ضعفاً عما ينتج تحت الظروف الهوائية ، بما يعنى حدوث تثبيط لعملية التخمر فى وجود الأكسجين ، بسبب تأثير عملية التهوية على التخمر ، وهو مايعرف الآن بتأثير باستير Pasteur effect (وأنظر تذييل ص ٧١٦) .

ومابينه تأثير باستير ، من حدوث تثبيط لعمليات التخمر ، بوجود الأكسجين ، أصبح يعتبر الآن أحد النماذج المتعلقة بتنظيم عمليات الأيض الغذائى ، ليس فقط بالنسبة للخميرة ، ولكن لكل المجهريات الاختيارية للهواء .

فتحت الظروف اللاهوائية يزداد انتاج الايثانول ، ويزيد استهلاك السكر ، وتنتج كميات قليلة من الطاقة (١ مول جلوكوز يعطى ٢ مول ATP) . بينما فى وجود الهواء ، تتجه الخميرة الى القيام بتفاعلات التنفس الهوائى ، فيقل استهلاك السكر ، ويقل انتاج الايثانول ، مع انتاج كميات أكبر من الطاقة (١ مول جلوكوز يعطى ٣٨ مول ATP) .

والشكل التخطيطى التالى يوضح كمية الطاقة الناتجة من تخمر الجلوكوز بواسطة الخميرة تحت ظروف هوائية ، وتحت ظروف لاهوائية



التخمر الجلسرولى

يمكن تحويل التخمر الايثانولى الى تخمر جلسرولى ، وذلك باضافة كبريتيت الايدروجين ($-HSO_3$) الى وسط التخمر ، وهى مادة غير سامة للخميرة ، ولكنها تتحد مع المركب الوسطى ، الاسيتالدهيد ، الناتج من دورة فركتوز - ١ - ٦ - داى فوسفات ، فيترسب الاسيتالدهيد

$$CH_3 - CHO + NaHSO_3 \longrightarrow CH_3 - CHOH - SO_3\,Na \downarrow$$

وبترسيب الاسيتالدهيد ، وهو المركب الذى يقوم باستقبال الايدروجين والتحول الى ايثانول ، فإن انتاج الايثانول بواسطة الخميرة يتوقف ، وتقوم مادة داى هيدروكسى اسيتون فوسفات (من نواتج دورة التحلل) باستقبال الايدروجين وتختزل الى جلسرول - ٣ - فوسفات، وهذه تتحول الى جلسرول ، حسب المعادلة العامة

$$\text{Glucose} + \text{Hydrogen sulfite} \longrightarrow \text{Glycerol} + \text{Acetaldehyde sulfite} + CO_2$$

ب - تكون الإيثانول بواسطة البكتريا

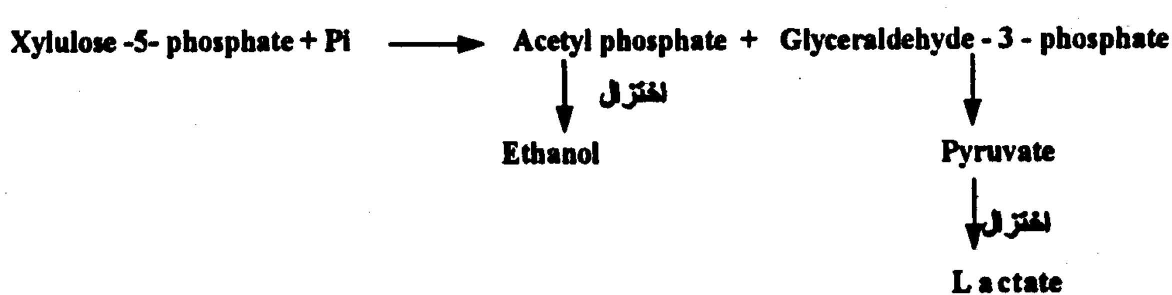
ينتج الإيثانول بواسطة البكتريا بطرق متعددة ، تتوقف على نوع البكتريا ، وكأمثلة على ذلك

١ - تسلك بكتريا *Sarcina ventriculi* سلوك الخميرة فى انتاجها للايثانول ، وذلك عن طريق دورة فركتوز - ١ ، ٦- داى فوسفات .

٢- تقوم بكتريا *Zymomonas mobilis* ، وهى بكتريا عصوية متحركة بأسواط طرفية ، تقوم بتكوين الايثانول من السكر ، من خلال دورة 2-keto-3-deoxy-6-phosphogluconate ، ويكون الناتج النهائى لتخمر الجلوكوز هو ايثانول ، حامض لاكتيك ، CO_2 .

٣- تنتج بعض أنواع الكلوستريديا والانتروباكتريا ، الايثانول كمنتج ثانوى من الاسيتالدهيد ، وينتج هذا الاسيتالدهيد من خلال اختزال اسيتايل CoA ، وليس من البيروفات .

٤- تنتج بكتريا *Leuconostoc mesenteroides* ، وهى من بكتريا حامض اللاكتيك خليطة التخمر ، تنتج الايثانول من خلال دورة فوسفات البنتوز ، حيث تحول زيليلوز - ٥ - فوسفات الى مركبات وسطية ، تختزل الى جلسرول وحامض لاكتيك حسب المعادلة العامة



وجدير بالذكر أن مصدر ذرات كربون الايثانول ، الناتجة من تخمر جزىء الجلوكوز، تختلف بإختلاف نوع الميكروب القائم بالتخمر ، فالإيثانول الناتج من الخميرة يتكون من ذرات الكربون رقم ١ ، ٢ ، ٥ ، ٦ للجلوكوز ، بينما يتكون الايثانول الناتج من البكتريا من ذرات الكربون رقم ٢ ، ٣ ، ٥ ، ٦ للجلوكوز أو من ذرة رقم ٢ ، ٣ ، كما هو مبين بالشكل التالى [١١-٢]

شكل ١١-٢: مصدر ذرات كربون الايثانول ، الناتجة من كربون جزىء الجلوكوز المتخمر .

٢ - التخمر اللاكتيكى : Lactic acid fermentation

مميزات بكتريا حامض اللاكتيك *

تخمر بكتريا حامض اللاكتيك سكر اللاكتوز للحصول على الطاقة ، وهى إجبارية التخمر ، على عكس بكتريا فصيلة الانتروباكترياسيا الاختيارية ، التى تنتج حامض اللاكتيك أيضا أثناء التخمر والتى تحتوى خلاياها على مركبات الهيمين Haemins (السيتوكرومات والكاتاليز) .

وبكتريا حامض اللاكتيك منها الكروى الذى يتبع أجناس *Lactococcus, Leuconostoc, Pediococcus* and *Streptococcus* ، ومنها العصوى الذى يتبع جنس *Lactobacillus* ، وهى كلها بكتريا موجبة لصبغة جرام ، غير متجرثمة (عدا *Sporolactobacillus inulinus*) ، غير متحركة ، محبة لكمية قليلة من الأكسجين ، سالبة للكاتاليز ، مخمرة للكربوهيدرات للحصول على الطاقة ، مع انتاج حامض لاكتيك .

وبكتريا حامض اللاكتيك فاقدة القدرة على تخليق صبغات الهيم ، ولذا فهى ذات احتياجات غذائية معقدة ، إذ تحتاج الى توفر عوامل نمو إضافية فى بيئتها ، مثل الفيتامينات والأحماض الأمينية والقواعد النتروجينية .

وتتميز بكتريا حامض اللاكتيك بقدرتها على تمثيل سكر اللاكتوز ، على عكس كثير من المجهريات ، ويشاركها فى ذلك البكتريا المعوية مثل *E. coli* ، واللاكتوز سكر ثنائى ($C_{12}H_{22}O_{11}$) لايوجد بالنباتات ، ولكن تفرزه الثدييات فى ألبانها ، ولابد للبكتريا من أن تحلله مائيا قبل أن يدخل فى دورات الأيض الغذائى .

لاكتوز + يد٢ أ ⟵ (جليكوسايديز) جلوكوز يمينى + جالاكتوز يمينى

ثم يفسفر الجالاكتوز ويتحول الى جلوكوز -١- فوسفات ، ويتفسفر كذلك الجلوكوز ، ثم يدخلا فى دورة الايض الغذائى .

انتشار ومواطن بكتريا حامض اللاكتيك
Occurrence and habitat of lactic acid bacteria

توجد بكتريا حامض اللاكتيك فى الأوساط عالية القيمة الغذائية كاللبن ، ولذلك فهى نادراً ماتوجد فى الأراضى أو المياه ، فالمواطن الطبيعية لبكتريا حامض اللاكتيك هى

١- الألبان والمنتجات اللبنية حيث يوجد
- *Lactobacillus brevis; L. bulgaricus, L. casei, L. fermentum, L. helveticus, L. lactis*
- *Lactococcus diacetilactis, L. lactis*

٢- النباتات السليمة والمتعفنة ، حيث يوجد
- *Lactobacillus brevis, L. delbrueckii, L. fermentum, L. plantarum*
- *Lactococcus lactis*
- *Leuconostoc mesenteroides*

---

* أنظر تصنيف المجاميع البكترية ، الباب السابع ، الفصل الثانى .

٣ - القناة الهضمية والأغشية المخاطية للإنسان والحيوان ، حيث يوجد

- *Bifidobacterium*
- *Enterococcus faecalis* (بمعدة الانسان)
- *Lactobacillus acidophilus*
- *Streptococcus bovis* (بمعدة المجترات)
- *Streptococcus pneumoniae, S. pyogenes, S. salivarius*

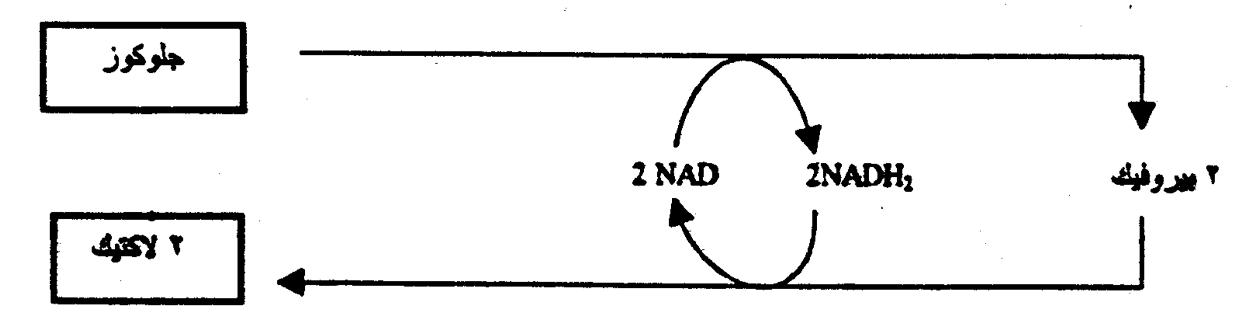
وأغلب أنواع بكتريا حامض اللاكتيك غير ضارة ، وتوجد متعايشة طبيعيا فى الأغشية المخاطية المبطنة للتجويف الفمى ، والجهاز التنفسى والبولى والتناسلى ، ولكن بعضها ممرض وشديد الضراوة .

تمثيل الكربوهيدرات بواسطة بكتريا حامض اللاكتيك

تختلف أنواع فصيلة بكتريا حامض اللاكتيك فى قدرتها على تخمير الجلوكوز الى لاكتيك ، فمنها ماهو متماثل التخمر Homofermentative ، حيث يشكل حامض اللاكتيك الناتج من التخمر نحو ٩٠% أو أكثر من نواتج التخمر ، ومنها ماهو خليط التخمر Heterofermentative ، حيث يشكل حامض اللاكتيك الناتج جزءا من نواتج التخمر ، التى تحتوى على نواتج أخرى مثل حامض الأستيك وثانى أكسيد الكربون .
ويوضح جدول [١١-١] بعض مميزات بكتريا حامض اللاكتيك .

انتاج اللاكتيك بالتخمر المتماثل

يمثل حامض اللاكتيك حوالى ٩٠% أو أكثر من نواتج تخمر الجلوكوز بواسطة بكتريا حامض اللاكتيك متماثلة التخمر . ويتم تمثيل الجلوكوز خلال دورة فركتوز داى فوسفات ، حيث تمتلك البكتريا متماثلة التخمر ، كل إنزيمات هذه الدورة بما فى ذلك انزيم الألدوليز . كما تستخدم هذه البكتريا الايدروجين الناتج من تحول جلسرالدهيد - ٣ - فوسفات إلى ٣,١ داى فوسفوجلسريك ، لاختزال البيروفيك ألى لاكتيك ، كما هو مبين بالشكل .



يحدد نوع اللاكتات المتكونة D أو L أو D-L التخصص فى الوضع الفراغى لانزيم لاكتات الديهيدروجينيز ، ووجود أو عدم وجود انزيم لاكتات راسيميز Lactate racemase .

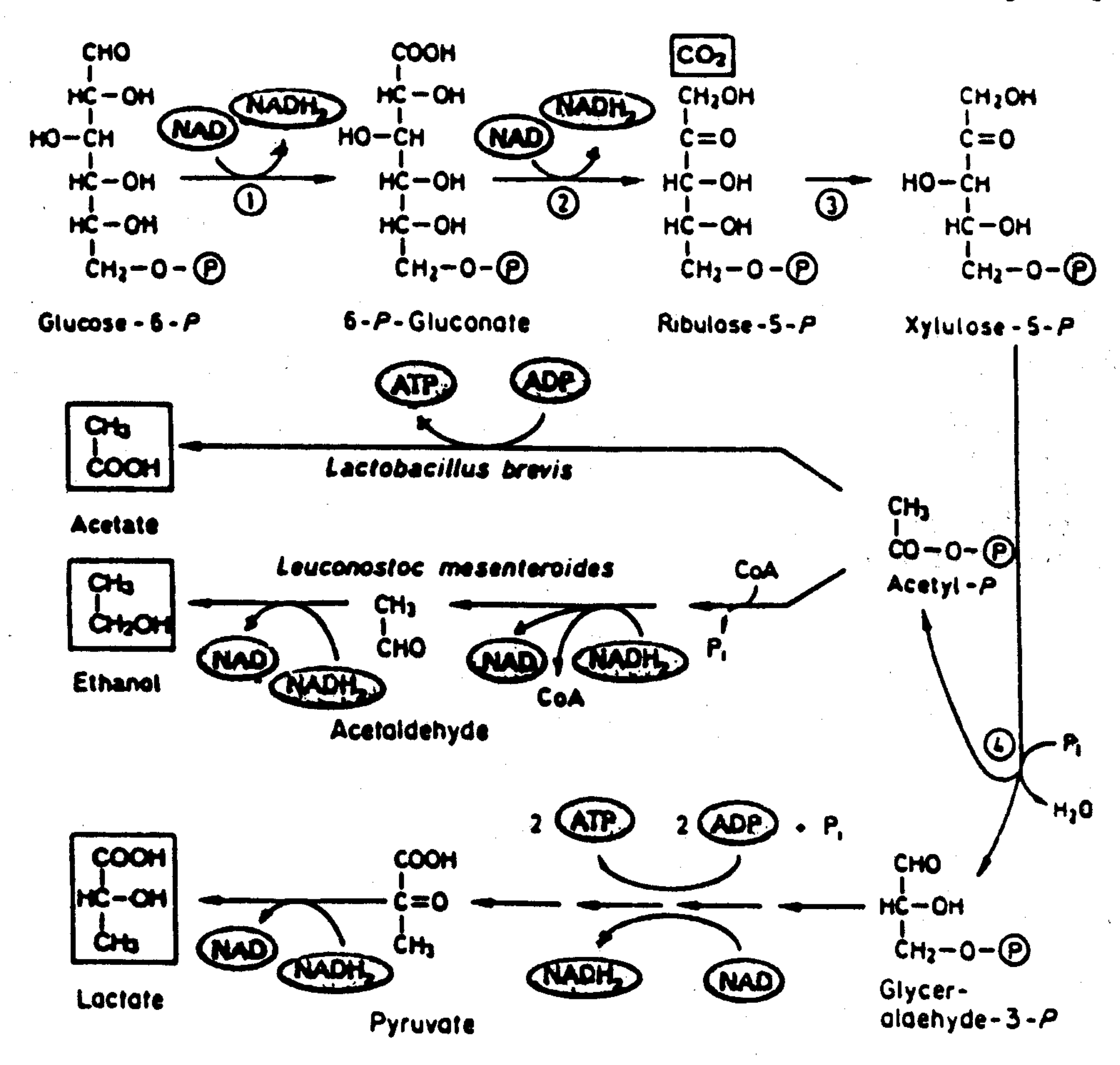
نسبة بسيطة من حامض البيروفيك الناتج يحدث له نزع لمجموعة (-COO) ، ويتحول الى استيك ، إيثانول ، CO_2 ، ويتوقف مدى تكون هذه النواتج الثانوية ، على تركيز الأكسجين بوسط التخمر .

جدول ١١-١ : بكتريا حامض اللاكتيك مرتبة حسب الشكل (عصوى أو كروى) وحسب نـــوع التخمر الذى تجريه .

Cocci	Rods
Homofermentative: $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3\text{-}CHOH\text{-}COOH$	
Streptococci	**Lactobacilli**
Lactococcus lactis subsp. *lactis*	Thermobacteria (temp. opt. 40°C, do not grow at 15°C)
Lactococcus lactis subsp. *lactis* var. *diacetilactis*	*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii*
Lactococcus lactis subsp. *cremoris*	*Lactobacillus delbrueckii* subsp *lactis*
Enterococcus faecalis	*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*
Streptococcus salivarius subsp. *salivarius*	*Lactobacillus helveticus*
Streptococcus salivarius subsp. *thermophilus*	*Lactobacillus acidophilus*
Streptococcus pyogenes	*Lactobacillus salivarius*
	Streptobacteria (temp. opt. 30-37°C, always grow at 15°C)
	Lactobacillus casei
	Lactobacillus alimentarius
	Lactobacillus coryniformis
	Lactobacillus plantarum
Heterofermentative: $C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3\text{-}CHOH\text{-}COOH + CH_3\text{-}CH_2OH + CO_2$ (or $CH_3 - COOH$)	
Streptococci	**Lactobacilli**
Leuconostoc mesenteroides subsp. *mesenteroides*	*Lactobacillus bifermentans*
Leuconostoc mesenteroides subsp. *dextranicum*	*Lactobacillus brevis*
Leuconostoc mesenteroides subsp. *cremoris*	*Lactobacillus fermentum*
	Lactobacillus kandleri
	Lactobacillus viridescens

انتاج اللاكتيك بالتخمر الخليط

تفتقد بكتريا حامض اللاكتيك خليطة التخمر ، الانزيمات الهامة الخاصة بدورة فركتوز داى فوسفات ، الألدوليز وترايوز فوسفات أيسومريز ؛ ولذلك فإن تحلل الجلوكوز بهذه البكتريا يتم من خلال دورة فوسفات البنتوز Pentose-phosphate pathway ، كما يتضح من شكل [١١-٣] .



شكل ١١-٣ : التخمر الخليط بواسطة بكتريا حامض اللاكتيك (خليطة التخمر) *Lactobacillus brevis* and *Leuconostoc mesenteroides*

الانزيمات المشاركة

① - جلوكوز-٦- فوسفات ديهيدروجينيز ③ - ابميريز
② - فوسفوجلوكونات ديهيدروجينيز ④ - فوسفوكيتوليز

- يتحول فوسفات الاسيتايل إما الى أسيتات بواسطة أسيتات كاينيز مع فسفرة ADP (فى حالة بكتريا *L. brevis*) ، أو الى إيثانول (فى حالة بكتريا *L. mesenteroides*) .
- أكسدة جليسرالدهيد فوسفات تتم كالمعتاد عن طريق دورة فركتوز داى فوسفات.

وفى هذه الدورة ينشق الزيليلوز - ٥ - فوسفات بـإنزيم الفوسفوكيتوليز ، ويتكون اسيتايل فوسفات وجلسرالدهيد-٣- فوسفات ، وتستمر هذه النواتج الوسطية فى التحلل ، حسب طبيعة البكتريا المخمرة ، ليتكون فى النهاية لاكتيك ، استيك ، ايثانول ، CO_2 ، بالإضافة الى مركبات غنية بالطاقة مثل ATP ، وقد يعمل الفركتوز كمستقبل للبروتونات الزائدة ويتكون مانيتول

$$\text{فركتوز} + NADH_2 \longrightarrow \text{مانيتول} + NAD$$

انتاج اللاكتيك ببكتريا *Bifidobacterium*

تتبع بكتريا بفيدوباكتريوم ، بكتريا حامض اللاكتيك خليطة التخمر ، وكلمة Bifidus ذات أصل لاتينى وتعنى منشق الى أثنين ، لأن أشكال خلايا هذه البكتريا على شكل V و Y . وهذه البكتريا عصوية متعددة الأشكال ، موجبة لصبغة جرام ، غير متجرثمة ، غير متحركة لاهوائية حتماً ، وتحتاج إلى جو يحتوى على حوالى ١٠% CO_2 لكى تنمو .

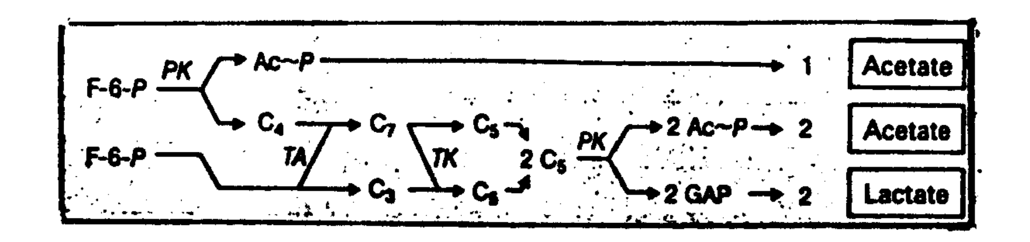
وتوجد هذه البكتريا بكثرة فى القناة الهضمية للأطفال الرضع ، خاصة المعتمدين على الرضاعة الطبيعية، لأن هذه البكتريا تحتاج فى نموها الى سكريات تحتوى على N-acetylglucosamine، الذى يوجد فى لبن الأمهات ولايوجد فى لبن الأبقار .

وتقوم هذه البكتريا بتمثيل الجلوكوز حسب المعادلة العامة

$$2\,C_6H_{12}O_6 \longrightarrow \underset{\text{لاكتيك}}{2\,CH_3-CHOH-COOH} + \underset{\text{استيك}}{3\,CH_3\,COOH}$$

وذلك عن طريق دورة Phosphoketolase ، لأن هذه البكتريا لاتمتلك انزيم الالدوليز ولا إنزيم جلوكوز-٦-فوسفات ديهيدروجينيز ، ولكن تمتلك انزيم فوسفوكيتوليز ، الذى يقوم بكسر فركتوز - ٦ - فوسفات وزيليلوز - ٥ - فوسفات ، الى اسيتايل فوسفات وإرثروز - ٥ - فوسفات على التوالى .

ويتم تمثيل الهكسوز مع تكون لاكتيك وأستيك حسب الشكل التخطيطى التالى [شكل ١١-٤] .



شكل ١١-٤ : شكل تخطيطى لتمثيل الجلوكوز بواسطة البفيدوباكتريوم

PK : Phosphoketolase فوسفوكيتوليز
TA : Transaldolase ترانس الدوليز
TK: Transketolase ترانس كيتوليز
Ac ~ P فوسفات الاسيتايل
GAP: Glyceraldehyde-3-phosphate جلسرالدهيد -٣-فوسفات

٣- التخمر البروبيونيكى : Propionic acid fermentation

تواجد وعزل بكتريا حامض البروبيونيك

توجد بكتريا حامض البروبيونيك فى معدة الحيوانات المجترة ، كالجاموس والأبقار والأغنام ، حيث تلعب دورا فى تكوين الأحماض الدهنية خاصة الاستيك والبروبيونيك ، كما أنها تقوم بتحويل اللاكتات الناتجة عن مختلف التخمرات الى بروبيونات .

نادرا ماتوجد هذه البكتريا فى اللبن ، كما لايمكن عزلها من الهواء أو التربة ، ولكن يمكن عزلها من الجبن السويسرى حيث تلعب دورا هاما فى انضاج هذا الجبن وإكسابه النكهة المميزة له ، ويتم العزل تحت ظروف لاهوائية فى بيئة إكثار تحتوى على مستخلصات خميرة ولاكتات .

مميزات بكتريا حامض البروبيونيك *

ينتمى جنس *Propionibacterium* الى مجموعة بكتريا الكورين Coryneform bacteria ، وأنواع هذا الجنس عصوية متعددة الأشكال ، وتظهر الخلايا على شكل مضرب الكرة تحت الظروف غير الملائمة ، وهى بكتريا موجبة لصبغة جرام ، غير متجرثمة ، غير متحركة ، ولاتنمو هذه البكتريا على البيئات الصلبة المعرضة للهواء ، نظراً لعدم تحملها لأكسجين الهواء الجوى ، ولقدرتها على النمو وإعادة تكوين ATP تحت الظروف اللاهوائية .

وتقوم هذه البكتريا تحت الظروف اللاهوائية بتخمير الجلوكوز والسكروز واللاكتوز والبنتوزات بالإضافة إلى اللاكتيك والماليك والجلسرول ، إلى حامض بروبيونيك ، ويتم هدم سكريات الهكسوز من خلال دورة فركتوز داى فوسفات .

ومن أنواع هذا الجنس مايمتلك انزيمات الهيم (السيتوكروم والكاتاليز) ، وهذه الأنواع متحملة للأكسجين بدرجة قليلة Microaerotolerant ، وتستطيع أن تنمو هوائيا ولاهوائيا .

من أنواع بكتريا حامض البروبيونيك الهامة

Propionibacterium freudenreichii, P. shermanii, P. acidi-propionici (Formerly *P. pentosaceum*)

ومن بكتريا حامض البروبيونك ماهو ممرض مثل النوع *P. acnes* ، الذى يتواجد على سطح جلد الحيوان ، ويسبب للانسان مرض حب الشباب الشائع (Acne vulgaris (Common acne.

وبالإضافة الى بكتريا حامض البروبيونيك ، فإن هناك أنواعاً أخرى من البكتريا قادرة على انتاج حامض بروبيونيك بالتخمر مثل

Clostridium propionicum, Selenomonas ruminantium,
Veillonella alcalescens (*Micrococcus lactilyticus*)

وكذلك أنواع تابعة لأجناس *Micromonospora* .

---

* أنظر تصنيف المجاميع البكتيرية ، الباب السابع ، الفصل الثانى .

تفاعل وود – وركمان : Wood – Werkman reaction

لاحظ كلا من Wood and Werkman عام ١٩٣٦ ، أن تكون الجلسرول بواسطة بكتريا حامض البروبيونيك ، يتضمن عملية كربكسله (إضافة لثانى أكسيد الكربون) لحامض البيروفيك (مركب ك٣) ، مع تكوين حامض ثنائى الكربوكسيل كالأوكسال أستيك (مركب ك٤) ، وقد سمى هذا التفاعل باسم مكتشفيه وود – وركمان .

ويتم ذلك حسب التفاعلين التاليين

1) Pyruvate + CO_2 + ATP ⟶ Oxalacetate + ADP + P_I

2) Phosphoenol pyruvate + CO_2 + H_2O ⟶ Oxalacetate + P_I

يتم التفاعل رقم (١) بإنزيم Pyruvate decarboxylase ، بينما يتم التفاعل رقم (٢) بإنزيم Phosphoenolpyruvate decarboxylase .

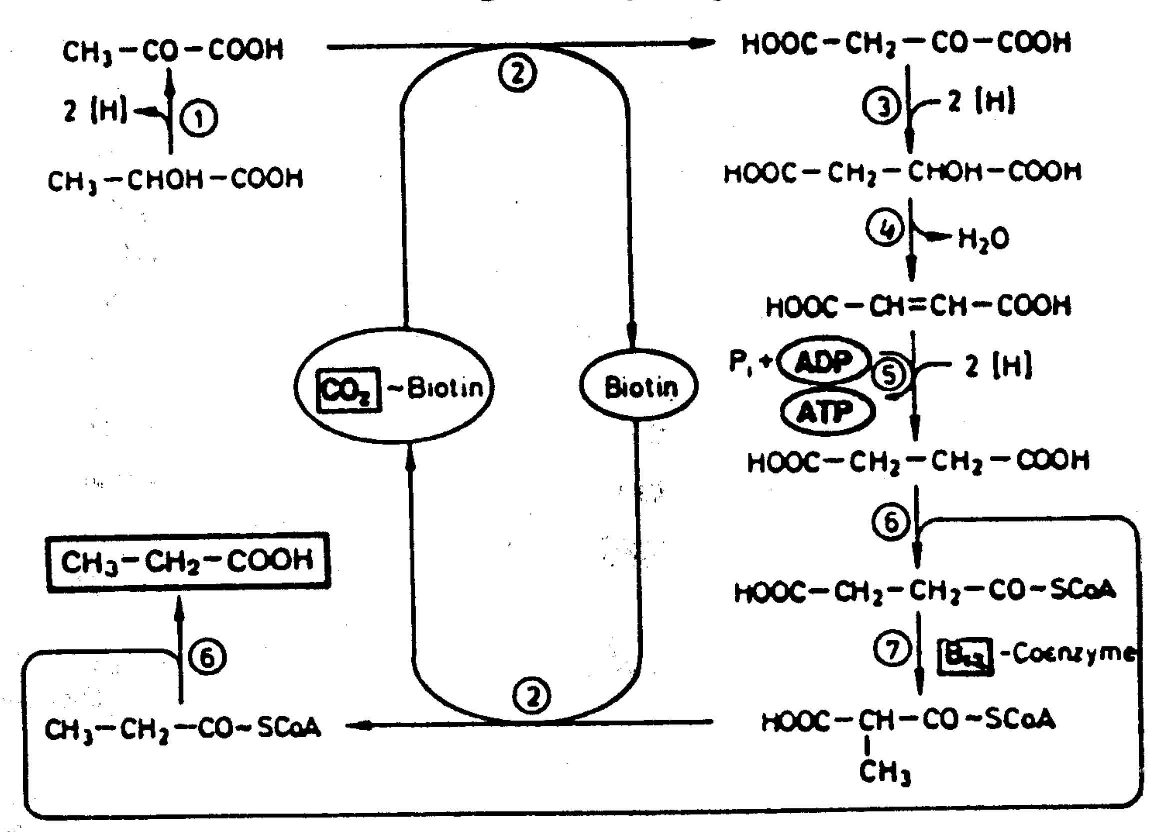
وتفاعل وود – وركمان ليس قاصرا على بكتريا حامض البروبيونيك ، ولكنه يوجد أيضا فى كل الكائنات الهتروتروفية ، بما فى ذلك النبات والحيوان .

تخليق حامض البروبيونيك

يتم تكوين البروبيونيك من اللاكتيك حسب المعادلة العامة التالية

$$\underset{\text{لاكتيك}}{3CH_3-CHOH-COOH} \longrightarrow \underset{\text{بروبيونيك}}{2\,CH_3-CH_2-COOH} + \underset{\text{أستيك}}{CH_3\text{-}COOH} + CO_2 + H_2O$$

وتقوم بكتريا حامض البروبيونيك باختزال اللاكتيك إلى بروبيونيك خلال دورة تعرف باسم دورة ميثايل مالونايل كو أ Methylmalonyl- CoA [شكل ١١-٥] ، وسميت هذه الدورة بذلك الاسم ، لنواتجها الوسطية المميزة



شكل ١١-٥ : دورة ميثايل مالونيل - كو أ المنتجة لحامض البروبيونيك

الانزيمات المشاركة

① - لاكتيك ديهيدروجينيز
② - ميثايل - مالونيل CoA كربوكسى ترانسفريز
③ - ماليك ديهيدروجينيز
④ - فيوماريز
⑤ - فيوماريز ريداكتيز ، مؤديا إلى تخليق ATP بإنتقال البروتونات
⑥ - CoA ترانسفريز
⑦ - ميثايل - مالونيل CoA - ميوتيز

ويلاحظ فى هذه الدورة

١ - تحول اللاكتيك الى بيروفيك بانزيم Lactate dehydrogenase .
٢ - كربكسلة البيروفيك الى أكسال أستيك بانزيم Methylmalonyl-CoA carboxytransferase بمشاركة مركب Biotin-CO_2 complex .
٣ ، ٤ ، ٥- اختزال الأوكسال استيك الى سكسنيك عن طريق الماليك والفيوماريك ، مع انطلاق ATP ، وتتم تلك التحولات بانزيمات Malate dehydrogenase, Fumarase, Fumarate reductase
٦ - تنشيط السكسنيك بتكوين Succinyl-CoA بواسطة CoA transferase .
٧ - تحول Succinyl-CoA الى Methylmalonyl - CoA بانزيم Methylmalonyl - CoA mutase ، مع ترسيب CoB_{12} (سيانوكوبالامين) .
٨ - فقد Methylmalonyl - CoA لمجموعة (-COO) ، وتحوله إلى Propionyl-CoA ، والذى يتحول بانزيم CoA transferase إلى حامض بروبيونيك

ويلاحظ فى هذه الدورة مشاركة ثلاث عوامل مساعدة ، هى البيوتين ، و CoA ، والسيانوكوبالامين Co-enzyme B_{12}

دورة أكريلويل - كو أ : Acryloyl – CoA pathway

بعض أنواع البكتريا الأخرى مثل

Bacteroides ruminicola, Clostridium propionicum and *Megasphaera elsdenii*

تنتج حامض البروبيونيك من اللاكتيك عن طريق مسار آخر أبسط من المسار السابق ، حيث يتكون Acryloyl – CoA (مشتق من حامض الاكريليك Acrylic) * كمركب وسطى كما هو مبين فيما يلى

$$CH_3-CHOH-COOH \longrightarrow CH_3-CHOH-CO \sim S\,CoA \xrightarrow{H_2O}$$

لاكتيك — Lactyl – CoA

$$CH_2=CH-CO \sim S\,CoA \xrightarrow{+\ 2H} CH_3-CH_2-CO \sim S\,CoA \longrightarrow$$

Acryloyl-CoA — Propionyl – CoA

$$CH_3-CH_2-COOH$$

حامض بروبيونيك

٤ - التخمر الفورميكى ، التخمر المختلط :Formic fermentation, Mixed fermentation

البكتريا المخمرة وأنواعها

تتميز بعض أنواع البكتريا بقدرتها على انتاج حامض الفورميك كناتج نهائى لعملية التخمر ، والعديد من هذه البكتريا المخمرة ، قادر على انتاج أحماض أخرى بجانب حامض الفورميك ، لذا يسمى هذا النوع من التخمر بالتخمر الفورميكى أو التخمر المختلط .

معظم هذه البكتريا المخمرة تستوطن الأجزاء المعوية ، ولذا سميت الفصيلة التى تتبعها هذه البكتريا ، باسم فصيلة البكتريا المعوية ، الأنتروباكتريسيا Enterobacteriaceae ، وتتميز أغلب أنواع بكتريا هذه الفصيلة ، بأنها بكتريا عصوية ، سالبة لصبغة جرام ، غير متجرثمة ، متحركة بأسواط محيطية (على كل سطح الخلية) ، إختيارية للهواء حيث تمتلك صبغات الهيمين (السيتوكروم والكاتاليز) ، وتحصل على الطاقة اللازمة لها إما هوائيا عن طريق التنفس ، أو لاهوائيا عن طريق تخمير الكربوهيدرات .

وبكتريا فصيلة الانتروباكتريسيا ليست بذات احتياجات غذائية معقدة ، فهى تنمو على البيئات التركيبية البسيطة ، التى تحتوى على أملاح معدنية وكربوهيدرات وأملاح أمونيوم ، وجميع أفراد الفصيلة مخمرة لسكر الجلوكوز مع انتاج أحماض .

---

* حامض الأكريليك Acrylic : حامض أحادى الكربوكسيل غير مشبع ، رمزه $CH_2=CH-COOH$

الأنواع الهامة *

البكتريا التابعة لفصيلة الانتروباكتريسيا لها أهميتها فى الوسط البيئى المحيط ، وفى النواحى الصحية ، والنواحى البحثية ، وفيما يلى نماذج من الأنواع البكتيرية الهامة التابعة لهذه الفصيلة .

Escherichia coli

تعيش *E. coli* طبيعيا فى الأمعاء ، وتستطيع أن تبقى حية خارج الأمعاء ، ولذلك تُستخدم ككاشف حيوى Bioindicator ، للكشف عن تلوث مياه الشرب بالمخلفات البرازية ، فوجود هذه البكتريا بمياه الشرب ، يعنى احتمال وجود ميكروبات مرضية معوية بالمياه ، مثل البكتريا المسببة لأمراض التيفود والكوليرا والدوسنتاريا ، والفيروسات المعوية مثل تلك المسببه لمرض شلل الأطفال . وتستخدم بكتريا *E. coli* كثيرا فى النواحى البحثية .

Enterobacter aerogenes (Formerly, *Aerobacter aerogenes*)

تعتبر بكتريا *E. aerogenes* توأما لبكتريا *E. coli* ، فكلاهما يتبع مجموعة بكتريا القولون Coliforms ، ويتشابهان فى كثير من الصفات ، غير أن بكتريا *E. aerogenes* مصدرها غير برازى Non-fecal ، وتنتشر بالتربة وعلى أسطح النباتات ، وتختلف عن *E. coli* فى بعض الخواص الحيوية الموضحة بالجدول [١١-٢] ، والتى تعرف باختبارات الإيمفيك IMVIC reaction .

جدول ١١-٢ : اختبارات الايمفيك Imvic reactions الأربعة ، المستخدمة للتمييز بين بكتريا *Escherichia coli & Enterobacter aerogenes* .

البكتريا	اختبارات الايمفيك			
	١	٢	٣	٤
	تكون الاندول	اختبار أحمر الميثايل	اختبار فوجز بروسكاور	استخدام السترات
Escherichia coli	+	+	−	−
Enterobacter aerogenes	−	−	+	+

ومصطلح ايمفيك IMVIC ، مأخوذ من الحرف الأول لكل اختبار من الإختبارات الأربعة المبينة بالجدول السابق ، وهى

١- تكون الاندول Indole formation
يكشف عن الاندول الناتج من تحلل التربتوفان المضاف للبيئة ، بدليل إيرليش Erlich** ، الذى يعطى مع الاندول لونا أحمرا .

٢- اختبار أحمر الميثايل Methyl red test
تحول لون الدليل الأصفر المضاف للبيئة الى اللون الأحمر ، دليل على تكون أحماض بكمية كافية ، مشيرا بذلك الى أن ق يد الوسط أصبح ٤,٥ أو أقل .

٣- اختبار فوجز بروسكار Vogos-Proskauer reaction
تكون الاسيتوين Acetoin من (جلوكوز - بيتون) البيئة ، يعطى لونا أحمرا فى وسط قلوى مع الكرباتين ودليل الفانفثول

٤- استخدام السترات Citrate utilization
استخدام السترات كمصدر كربون لنمو البكتريا ، يميز بحدوث تعكير بالبيئة السائلة .

---

* أنظر تصنيف المجاميع البكتيرية الهامة ، الفصائل الاختيارية للهواء (الباب السابع ، الفصل الثانى) .

** دليل ايرليش هو p-dimethylaminobenzaldehyde مذاباً فى كحول .

Proteus vulgaris

تعيش هذه البكتريا طبيعياً بالأمعاء ، ولكنها أكثر إنتشارا فى المياه والأراضى ، وتتميز بقدرتها على تغيير شكلها ، وبسرعة حركتها ، وبإنتشارها السريع على سطح الأجار لتغطى كل السطح ، ولذلك تسمى بالبكتريا المنتشرة أو المتجولة Spreaders, Swarmers .
والنوع *P. mirabilis* ممرض للإنسان ويسبب التهاباً بالجهاز البولى .

Klebsiella pneumoniae

تتميز الكلبسيلاعن الانتروباكتر بقدرتها على تكوين كابسول سميك حول الخلية ، وبعدم قدرتها على الحركة ، وهى بكتريا ممرضة للإنسان ، وتسبب الالتهاب الرئوى .

***Serratia marcescens* (Formerly, *Bacterium prodigiosum*)**

تتميز هذه البكتريا بتكوين صبغات حمراء اللون ، ومنها ماهو مفسد للأغذية .

Salmonella

تعيش هذه البكتريا بالمعدة والأمعاء ، ومنها أنواع ممرضة مثل *S. typhi* المسبب لمرض التيفود ، ومنها مايسبب تسمماتاً غذائية ، مثل *S. typhimurium* ، ومنها مايصيب الدواجن والحيوانات .

Shigella

تسبب الأنواع التابعة لهذا الجنس مثل *Shigella dysenteriae* مرض الدوسنتاريا (الزحار) للانسان مع إضطرابات معوية .

Erwinia

يشمل هذا الجنس أنواعا ممرضة للنبات ، حيث تهاجم الجذور والسوق والأوراق مسببة العفن الطرى البكتيرى Bacterial soft rot ، وذلك بسبب ماتفرزه هذه البكتريا من إنزيمات البكتينيز ، المحللة لمادة البكتين اللاحمة للخلايا النباتية .

Yersinia

تتشابه هذه البكتريا فى صفاتها مع صفات بكتريا الانتروباكتريسيا ، فهى اختيارية للهواء ، وتجرى تخمراتاً مشابهة لتخمرات الانتروباكتريسيا .
وأنواع جنس يرسينيا تعيش متطفلة على الحيوانات ، ومنها ماهو ممرض للإنسان مثل *Y. pestis* المتطفل على القوارض ، وينتقل عن طريق البراغيث للإنسان ، مسبباً له مرض الطاعون Plaque .

كما أن النوع *Y. enterocolitica* ، يسبب إضطراباتاً معوية للأطفال .

Vibrio cholerae

لاتتبع هذه البكتريا فصيلة الانتروباكتريسيا ، ولكنها تجرى تخمراتاً مشابهة لتخمرات الإنتروباكتريسيا ، وهى تعيش فى الأمعاء وتسبب للانسان مرض الكوليرا ، وهو مرض وبائى سريع الانتشار .

ويسبب النوع *V. parahaemolyticus* تسمما غذائيا للانسان .

النواتج التخميرية ومسارات الأيض الغذائى

إن التخمرات التى تتم بواسطة البكتريا الاختيارية للهواء ، ومنها بكتريا فصيلة الانتروباكتريسيا وبكتريا الباسلس وغيرها ، تتضمن تكوين أنواع متعددة من المركبات تكثر فيها الأحماض العضوية ، ومن النواتج التخميرية التى تنتج : الفورميك ، الاستيك ، السكسنيك ، اللاكتيك ، بالإضافة إلى الإيثانول والجلسرول والاسيتوين Acetoin و ٢ , ٣- بيوتان ديول 2,3-Butanediol ، وغازات ثانى أكسيد الكربون والايدروجين .

ويتم تمثيل الجزء الأكبر من الهكسوزات ، من خلال دورة فركتوز داى فوسفات ، أما الجزء القليل من الهكسوزات فيتم تمثيله من خلال دورة فوسفات البنتوز ، وتستخدم البكتريا الجلوكونات Gluconate عن طريق دورة 2-keto-3-deoxy-6-phosphogluconate .

وحسب النواتج النهائية للتخمرات ، التى تجريها هذه البكتريا تحت الظروف اللاهوائية ، فإنه يمكن تمييز نظامين تتم بهما هذه التخمرات ، هما

- نظام الكولاى Coli type fermentation

يمثل هذا النظام ، التخمر الذى تقوم به بكتريا *E. coli* ، وفى هذا التخمر لاينتج بيوتان ديول ، وتسود الأحماض العضوية فى منتجات التخمر ، وتكون كمية الغازات الناتجة من التخمر H_2 , CO_2 ، بنسبة ١:١ .

- نظام الانتروباكتر Enterobacter type fermentation

يمثل هذا النظام ، التخمر الذى تقوم به بكتريا *Enterobacter aerogenes* ، وفى هذا التخمر ينتج بيوتان ديول كناتج رئيسى ، وتكون كميات الأحماض العضوية المنتجة أقل بكثير من المنتج الرئيسى ، البيوتان ديول ، كما أن نسبة CO_2 الناتجة تكون أكبر بكثير من نسبة H_2.

وتحدث الاختلافات فى النواتج النهائية بين هذين النظامين من التخمرات ، بسبب الاختلاف فى مسارات التفاعل ، التى تحدث بكل منهما بدءاً من حامض البيروفيك .

ويوضح الجدول [١١-٣] نواتج التحلل النهائية فى هذين النظامين من التخمرات .

جدول ١١-٣ : نواتج تخمر الجلوكوز بواسطة بكتريا *Escherichia coli & Enterobacter aerogenes* .

المنتج	مول/١٠٠ مول جلوكوز	
	E. aerogenes	*E. coli*
٢و٣- بيوتان ديول CH_3-CHOH-CHOH-CH_3	٦٦,٥	صفر
إيثانول CH_3-CH_2OH	٧٠	٤٢
سكسنيك $COOH-CH_2-CH_2-COOH$	صفر	٢٩
لاكتيك $CH_3-CHOH-COOH$	٣	٨٤
أستيك CH_3-COOH	٠,٥	٤٤
فورميك $H-COOH$	١٨	٢
(مجموع الأحماض: سكسنيك، لاكتيك، أستيك، فورميك)	٢١,٥	١٥٩
ثانى أكسيد كربون CO_2	١٧٢	٤٤
ايدروجين H_2	٣٦	٤٣

* Ref. Schlegel H.G. (1995).

وفيما يلى ايجاز لمميزات التخمر بكل نظام

مميزات التخمر بنظام الكولاى *E. coli* type fermentation

يتميز تخمر الجلوكوز لاهوائيا بواسطة بكتريا *E. coli* بالصفات التالية

١ - فقد القدرة على انتاج الاسيتوين و ٢ ، ٣ - بيوتان ديول .

٢- تحول البيروفيك إلى فورميك واسيتايل CoA ، ويتم إنتاج الفورميك تحت ظروف لاهوائية بنظام إنزيمى من بيروفات : فورمات لاييز ، وهو نظام حساس جداً للأكسجين .

كما يتكون اللاكتيك من إختزال البيروفيك .

٣- تحلل الفورميك إلى ثانى أكسيد كربون وايدروجين ، حسب المعادلة

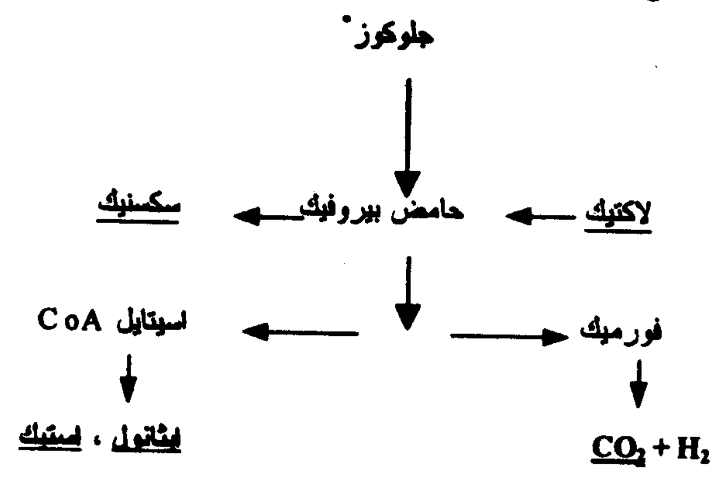
$$HCOOH \xrightarrow{\text{Formate : hydrogen lyase}} CO_2 + H_2$$

وكمية الغازات المتكونة من CO_2 و H_2 تكون عادة بنسبة ١:١ ، وتتأثر هذه النسبة بتغير ق يد الوسط .

٤- اختزال أسيتايل CoA إلى ايثانول .
يتكون الايثانول من إختزال اسيتايل CoA ، لأن بكتريا فصيلة الانتروباكتريسيا ، لاتملك إنزيم بيروفات ديكاربوكسيليز ، الذى يحول البيروفيك الى اسيتالدهيد ، كما أن جزءا من اسيتايل CoA يتحول الى استيك .

٥- ينتج السكسنيك عن طريق اتحاد فوسفو اينول بيروفيك مع CO_2 وتكون أكسال استيك ، الذى يتحول الى ماليك ثم فيوماريك ، وهذا يختزل الى سكسنيك بانزيم فيومارات ريداكتيز المرتبط بغشاء الخلية البكتيرية .

وشكل [١١-٦] يوضح نظام تخمر الجلوكوز ببكتريا الكولاى .



شكل ١١-٦ : تخمر الجلوكوز ببكتريا *E. coli* .

* النواتج النهائية للتخمر موضوع تحتها خط

مميزات التخمر بنظام الانتروباكتر *Enterobacter* type fermentation

تحت الظروف اللاهوائية تخمر بكتريا *Enterobacter aerogenes* الجلوكوز إلى اسيتوين و ٢ ، ٣ بيوتانول ديول ومجموعة من الأحماض العضوية . يبدأ تكون الاسيتوين من البيروفيك ، باتحاد جزيئين من حامض البيروفيك ونزع جزيئين CO_2 على مرحلتين ، ثم باختزال الاسيتوين يتكون ٢ ، ٣ بيوتان ديول كما يتضح من المعادلة التالية

$$CH_3-CO-COOH + CH_3-CO-COOH \xrightarrow[-CO_2]{\text{انزيم رقم ١},\ +TPP_1\ Mg^{2+}} CH_3-\underset{\underset{CH_3}{|}}{\underset{C=O}{|}}\overset{\overset{OH}{|}}{C}-COOH \xrightarrow[-CO_2]{\text{انزيم رقم ٢}}$$

حامض بيروفيك — ٢- اسيتايل لاكتات

$$\begin{matrix} CH_3 \\ | \\ CHOH \\ | \\ C=O \\ | \\ CH_3 \end{matrix} \xrightarrow[+NADH_2]{\text{انزيم رقم ٣}} \begin{matrix} CH_3 \\ | \\ CHOH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH_3 \end{matrix} + NAD$$

أسيتوين — ٢ ، ٣ - بيوتان ديول

انزيم ١ : اسيتايل - لاكتات سينثيز
٢ : ٢- اسيتايل - لاكتات ديكاربوكسيليز
٣ : بيوتان ديول ديهيدروجينيز

ويلاحظ فى تخمر الأنتروباكتر ، أن تحول البيروفيك إلى المركب المتعادل ٢ ، ٣ - بيوتان ديول ، يكون على حساب تحول البيروفيك الى الأحماض العضوية ، مما يؤدى الى قلة الأحماض العضوية الناتجة من هذا التخمر ، مقارنة بتخمر الكولاى .

كما يلاحظ أن تكون البيوتان ديول ، يؤدى الى زيادة كمية CO_2 الناتجة من التخمر ، لأنه اضافة الى جزء CO_2 الناتج من تحلل الفورميك (وهو من نواتج التخمر) ، فإن جزءاً آخراً أكبر ، ينتج أثناء تكون البيوتان ديول .

الداى اسيتايل Diacetyl

الداى اسيتايل مادة مكسبة للطعم والنكهة ، وهى تتكون من أكسدة الاسيتوين

$$CH_3 - CHOH - CO - CH_3 \xrightarrow{-2H} CH_3 - CO - CO - CH_3$$

ويُنتج الداى اسيتايل بواسطة بكتريا حامض اللاكتيك ، مثل
Lactobacillus plantarum, Lactococcus lactis, Leuconostoc mesenteroides
وتضاف هذه البكتريا كبادئات فى الصناعات اللبنية كالزبد والزبادى ، لانتاج الداى اسيتايل لاكساب المنتج الطعم والنكهة المرغوبة .

البكتريا المضيئة : Luminous (Luminescent) bacteria

البكتريا المضيئة ، بكتريا قادرة على بث الضوء بطريقة حيوية ، وهى أنواع بكتيرية بحرية ، هتيروتروفية التغذية ، توجد بمياه البحار وعلى أسطح بعض أنواع الأسماك وبجهازها الهضمى ، وتتشابه البكتريا المضيئة فى خواصها الفسيولوجية مع أفراد فصيلة بكتريا الانتروباكتريسيا ، ولذلك فقد تسمى أحياناً بالبكتريا المعوية البحرية Marine enterobacteria .

والبكتريا المضيئة سالبة لصبغة جرام ، متحركة بأسواط ، قد تكون أسواطاً محيطية كما فى النوع *Photobacterium phosphoreum* أو بأسواط طرفية كما فى النوع *Vibrio fischeri*. والبكتريا المضيئة محبة للملوحة ، مثلها كمثل البكتريا البحرية ، حيث تتحلل خلاياها فوراً عند نقلها إلى محلول منخفض الأسموزية Hypotonic solution ، كالماء المقطر .

ويمكن عزل البكتريا الضوئية بسهولة من مياه البحار ، ويتأثر نموها بمكونات البيئة النامية عليها ، ومعظم أنواع البكتريا المضيئة مخمرة للسكريات لاهوائيا ، مكونة لتخمر خليط ، بطريقة مشابهة للتخمر الذى تجريه بكتريا الانتروباكتر ، حيث ينتج الاسيتوين ، بالإضافة إلى الفورميك ، الاستيك ، اللاكتيك ، السكسنيك ، الإيثانول ، وثانى أكسيد الكربون .

عملية الاضاءة الحيوية : Bioluminescence process

الاضاءة الحيوية ، وقد تسمى أيضا بالفسفرة الحيوية Bio-phosphorescence ، عبارة عن تألق ضوئى ، يحدث نتيجة أكسدة هوائية (أى فى وجود الأكسجين) ، ودون إنبعاث حرارة أو إنطلاق طاقه ، وتوجد خاصية الاضاءة الحيوية فى بعض الكائنات الحية ، مثل بعض أنواع البكتريا والفطريات والحشرات ، كما أنها خاصية شائعة الوجود فى الكائنات البحرية ، خاصة تلك التى توجد بمياه الأعماق .

توجد البكتريا المضيئة فى حالة تكافل خارجى مع بعض الأحياء البحرية ، حيث تفرز البكتريا فى وجود الأكسجين انزيم الليوسيفريز Luciferase ، الذى يؤثر على مادة الليوسيفرين Luciferin ، وهى مادة بروتينية غنية بالفوسفات توجد بخلايا العائل ، ويتأكسد الليوسيفرين بانزيم الليوسيفريز هوائيا ، فيحدث تألقاً ضوئيا حيوياً ، ينبعث على صورة موجات ضوئية

ليوسيفرين ——(ليوسيفريز / أكسجين)——▶ ضـــوء

٥- التخمر بواسطة بكتريا الكلوستريديا : Clostridial fermentation

تقوم مجموعة بكتريا الكلوستريديا بتخمير الكربوهيدرات لاهوائيا ، مع انتاج أحماض عضوية وكحولات وغازات مثل البيوتريك ، البروبيونيك ، البيوتانول ، البروبانول ، الاسيتون ، ك أ٢ ، يد٢ ، كما أن من بكتريا الكلوستريديا مايستطيع تخمير الايثانول والأحماض الأمينية والبروتينات وبعض المواد الأخرى كالسليلوز .

ويعتبر انتاج الأسيتون ، و ٢ - بروبانول ، والبيوتانول ، من المنتجات الصناعية الهامة ، حيث تستخدم هذه المنتجات التخميرية ، كمذيبات عضوية .

مميزات بكتريا جنس *Clostridium*[*]

تتميز بكتريا جنس *Clostridium*[*] بأن خلاياها عصوية ، موجبة لصبغة جرام ، متحركة حركة سريعة بأسواط محيطية ، لاهوائية ، متجرثمة ، والجراثيم بيضية أو مستديرة الشكل ، وقد تكون أكبر قطرا من قطر الخلية الخضرية الموجودة بها ، وهى فى طور الاسبورانجيا ، فتسبب انتفاخ الخلية ، والجراثيم مقاومة للحرارة .

تتراوح درجة حرارة النمو المثلى لمعظم أنواع الكلوستريديا مابين ٣٠ ألى ٤٠°م ، وبجانب هذه الأنواع الميزوفيلية ، فإن هناك أنواعا محبة للحرارة المرتفعة ، مثل *Cl. thermoaceticum* , *Cl. thermohydrosulfuricum* ، التى درجة حرارة نموها المثلى ٦٠-٧٥°م ، وتنمو الكلوستريديا عند ق يد قاعدى أو متعادل ، حيث يحدث لها تثبيط فى الوسط الحامضى ، كما فى الكرنب المخلل والسيلاج .

ولاتحتوى أفراد جنس الكلوستريديوم على مشتقات الهيم (السيتوكروم والكاتاليز) ، وإن كان هناك أنواع قليلة من الكلوستريديا التى يمكنها تكوين السيتوكرومات بخلاياها ، إذا ماأضيف لبيئة النمو مواد ممهدة Precursors ، وتحتوى الكلوستريديا غالبا على مواد عديدة التسكر شبيهة بالنشا .

وعند عزل وإكثار بكتريا الكلوستريديا ، تستخدم لقاحات مبسترة ، وذلك لما تتميز به جراثيمها من مقاومة للحرارة . وغالبا ماتدمص بكتريا الكلوستريديا المحللة للسكريات على سطح الحبوب النشوية وجزيئات السليلوز . وقبل استخدام هذه الحبوب أو الجزيئات كلقاحات ، فإنها تغسل للتخلص من معظم الميكروبات العالقة ، مع بقاء الكلوستريديا الملتصقة بالحبوب النشوية أو جزيئات السليلوز .

ومن الناحية الفسيولوجية ، فإن بكتريا الكلوستريديا تتميز بقدرتها التخميرية العالية ، والجدول [١١-٤] يوضح مجاميع الكلوستريديا ، مرتبة حسب خواصها التخميرية .

---

[*] أنظر تصنيف المجاميع البكتيرية ، الباب السابع ، الفصل الثانى .

جدول ١١-٤ : بعض أنواع الكلوستريديا ، مجمعة حسب خواصها التخميرية .

أنواع الكلوستريديا	مادة التفاعل	نواتج التخمر
١- منتجة لحامض البيوتريك		
Cl. butyricum	جلوكوز ، نشا ، دكسترين	بيوتريك ، أستيك ، ك أ$_2$ ، يد$_2$
Cl. tyrobutyricum	جلوكوز ، لاكتيك جلسرول + استيك	بيوتريك ، أستيك ، ك أ$_2$ ، يد$_2$
Cl. pasteurianum	جلوكوز ، نشا ، مانوز ، انيولين	بيوتريك ، استيك ، ك أ$_2$
Cl. pectinovorum	بكتين ، نشا ، جليكوجين ، دكسترين	بيوتريك ، استيك
منتجة للبيوتانول		
Cl. butylicum	جلوكوز	بيوتريك ، استيك ، بيوتانول ، ٢- بروبانول ، ك أ$_2$ ، يد$_2$
Cl. acetobutylicum	جلوكوز ، بيروفيك ، جلسرول	بيوتريك ، استيك ، بيوتانول ، أسيتون ، اسيتوين ، ايثانول ، ك أ$_2$ ، يد$_2$
٣- منتجة لحامض البروبيونيك		
Cl. propionicum	الانين ، ثرايونين	استيك ، بروبيونيك ، ك أ$_2$
٤- منتجة لحامض الكابرويك		
Cl. kluyveri	ايثانول + استيك + ك أ$_2$	كابرويك ، بيوتريك ، يد$_2$
٥-تقوم بتفاعل استكلاند		
Cl. botulinum *Cl. histolyticum* *Cl. sporogenes* *Cl. sticklandii*	أحماض أمينية ، بروتينات	استيك ، لاكتيك ، أمونيا ، يد$_2$
٦- ذات دورات أيض غذائية خاصة		
Cl. aceticum	(ك أ$_2$ + يد$_2$) ، فركتوز	استيك
Cl. acidi-urici	يوريا ، زانثين	استيك ، فورميك ، أمونيا ، ك أ$_2$
Cl. tetanomorphum	جلوتاميك ، هستيدين	بيوتريك ، استيك ، أمونيا ، ك أ$_2$ ، يد$_2$

مواد تفاعل الكلوستريديا : Substrates of clostridia

تتميز أنواع جنس كلوستريديا ، بقدرتها على استخدام وتخمير أنواعا متعددة من المواد الطبيعية ، فهى قادرة على تمثيل عديدات التسكر (نشا ، جليكوجين ، سليلوز ، هميسليلوز ، بكتين) ، والأحماض الأمينية ، والبروتينات ، والقواعد النتروجينية (البيورين والبريميدين) والأحماض النووية ، كما أن بعضها مثل *Cl. pasteurianum* قادر على استخدام نتروجين الهواء الجوى كمصدر وحيد للنتروجين ، وتثبيته فى خلاياه .

ويمكن تقسيم الكلوستريديا الى مجموعات ، وذلك حسب خواصها التخميرية ونواتج التخمر ، كما هو موضح بالجدول السابق [١١-٤] .

كما يمكن تقسيم الكلوستريديا حسب مواد التفاعل المستخدمة ، إلى

أ - الكلوستريديا المحللة للسكريات : Saccharolytic clostridia

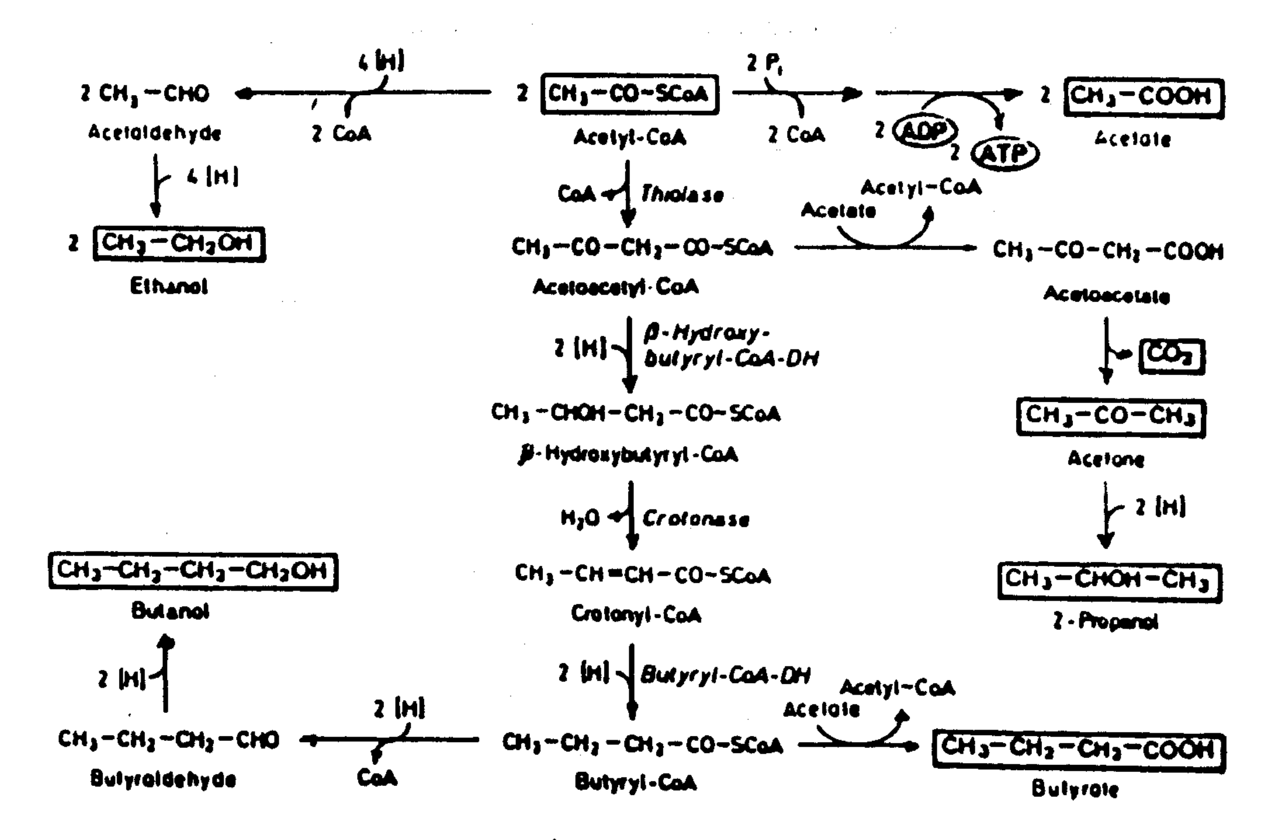
تضم هذه المجموعة أنواع الكلوستريديا القادرة بشكل أساسى على تمثيل السكريات وعديدات التسكر . ومن التخمرات التى تجريها هذه البكتريا

أ-١- تخمر البيوتريك - بيوتانول : Butyric-butanol fermentation

أثناء تخمير الكلوستريديا للسكريات ، تنتج كميات مختلفة من الأحماض (بيوتريك ، بروبيونيك ، استيك) ، والكحولات (بيوتانول ، ٢- بروبانول ، ايثانول) ، بالإضافة الى الاسيتون والغازات (ك أ٢ ، يد٢) ، ويسمى التخمر الناتج باسم نواتجه الأساسية [جدول ١١-٤].

وفى تخمر البيوتريك - بيوتانول ، كما يحدث فى حالة بكتريا *Cl. butyricum & Cl. acetobutylicum* ، تقوم الكلوستريديا بتمثيل الجلوكوز خلال دورة فركتوز داى فوسفات ، وينتقل الايدروجين المنزوع من جلسرالدهيد - ٣ - فوسفات الى أحماض عضوية وكيتونات ، قد تم تخليقها على التوالى من البيروفيك واستايل CoA ، ومع تكامل دورة التمثيل ، تتخلق نواتج التخمر النهائية التى تشمل : أستيك ، بيوتريك ، أسيتون ، ٢- بروبانول ، بيوتانول ، ايثانول ، ك أ٢ ، يد٢ ، وتختلف كميات النواتج المخلقة فيما بينها ، حسب ظروف التخمير .

ويوضح الشكل [١١-٧] نواتج تخمر الجلوكوز بالكلوستريديا



شكل ١١-٧ : تكون الاسيتات والايثانول والبيوتانول والبيوتريك والاسيتون و ٢- بروبانول أثناء تخمر الجلوكوز بالكلوستريديا .

- يتخمر الجلوكوز عن طريق دورة فركتوز داى فوسفات حتى البيروفيك .
- يتحول الجلوكوز الى استيايل CoA بانزيم بيروفات – فرودكسين اكسيدو ريداكتيز .
- التفاعلات المبينة بالشكل أعلاه ، هى التى تبدأ من استيايل CoA .

مسارات التحلل

١ - تبدأ خطوات تكون البيوتريك من تكثف جزيئين من استيايل CoA ، ثم تكون استيواسيتايل CoA فى وجود انزيم Thiolase .

٢ - اختزال اسيتو اسيتايل CoA الى بيتا هيدروكسى بيوتيرايل CoA ، فى وجود انزيم β-hydroxy butyryl-CoA dehydrogenase ، والـ $NADH_2$.

٣- نزع الماء من المركب السابق ، ثم إختزاله الى بيوتيرايل CoA .
وقد يتحول CoA ألى استيك فى وجود انزيم ترانسفيريز CoA مع انطلاق البيوتريك .

٤- قد يعاد إستخدام استيايل CoA لتخليق ATP بانزيم فوسفو ترانس اسيتايليز وانزيم اسيتات كاينيز ، مع تخليق الاستيك ، حسب المعادلة

$$CH_3\text{-}CO \sim SCoA \xrightarrow[CoA]{\pm Pi} CH_3\text{-}CO\text{-}O \sim P \xrightarrow{ADP \to ATP} CH_3\text{-}COOH$$

استيايل CoA   أستيك

٥- النواتج النهائية لتخمر الجلوكوز ببكتريا *Cl. acetobutylicum* ، هى بيوتريك ، استيك ، بيوتانول ، اسيتون ، ٢ - بروبانول ، ايثانول ، ك أ٢ ، يد٢ .

٦- ينتج الايثانول من اختزال استيايل CoA .

٧- ينتج الايدروجين من تحلل البيروفيك ، أو من $NADH_2$ المنتج عند نزع H_2 من جلسرالدهيد -٣- فوسفات .

تكون الايدروجين فى التخمر البيوتريكى

ينتج الايدروجين الجزيئى فى التخمر البيوتريكى من تحلل حامض البيروفيك ، أو من $NADH_2$ المنتج أثناء نزع الايدروجين من مركب جلسرالدهيد - ٣ - فوسفات . وكلما زاد إنطلاق الايدروجين الجزيئى ، كلما قلت حاجة مركبات دورة التخمر لمستقبلات الايدروجين العضوية (اسيتايل CoA) ، وبذلك يمكن الاحتفاظ برابطة ثيواستر الغنية بالطاقة الموجودة فى اسيتايل CoA ، واستخدامها فى إنتاج ATP . ولذلك فانه يلاحظ أن محصول الطاقة الناتج من تخمر الجلوكوز بواسطة *Cl. butyricum* ، يزيد ٣ مول ATP ، إذا ماتحرر أكثر من ٢ مول جزىء H_2 ، وبالتالى تحدث قلة فى إنتاج البيوتريك وزيادة فى انتاج الاستيك .

تأثير قلوية الوسط

يؤثر (ق يد) الوسط التخميرى على النواتج النهائية للتخمر ، ويوضح الجدول التالى [١١-٥] ، تأثير إضافة كربونات الكالسيوم ، على النواتج النهائية للتخمر بواسطة بكتريا *Cl. acetobutylicum* .

جدول ١١-٥ : النواتج التخميرية لبكتريا *Cl. acetobutylicum* فى وجود وعدم وجود كربونات الكالسيوم .

منتجات التخمر	فى وجود كربونات الكالسيوم	فى عدم وجود كربونات الكالسيوم
بيوتريك	٦٣٠,٠	٣٢,٤
بيوتانول	٤٥,٧	٤١١,٥
استيك	٢٣٠,٧	١٠٢,١
ايثانول	٢٢,٤	٤٤,٥
اسيتون	١٣,٢	٢٢٢.٣

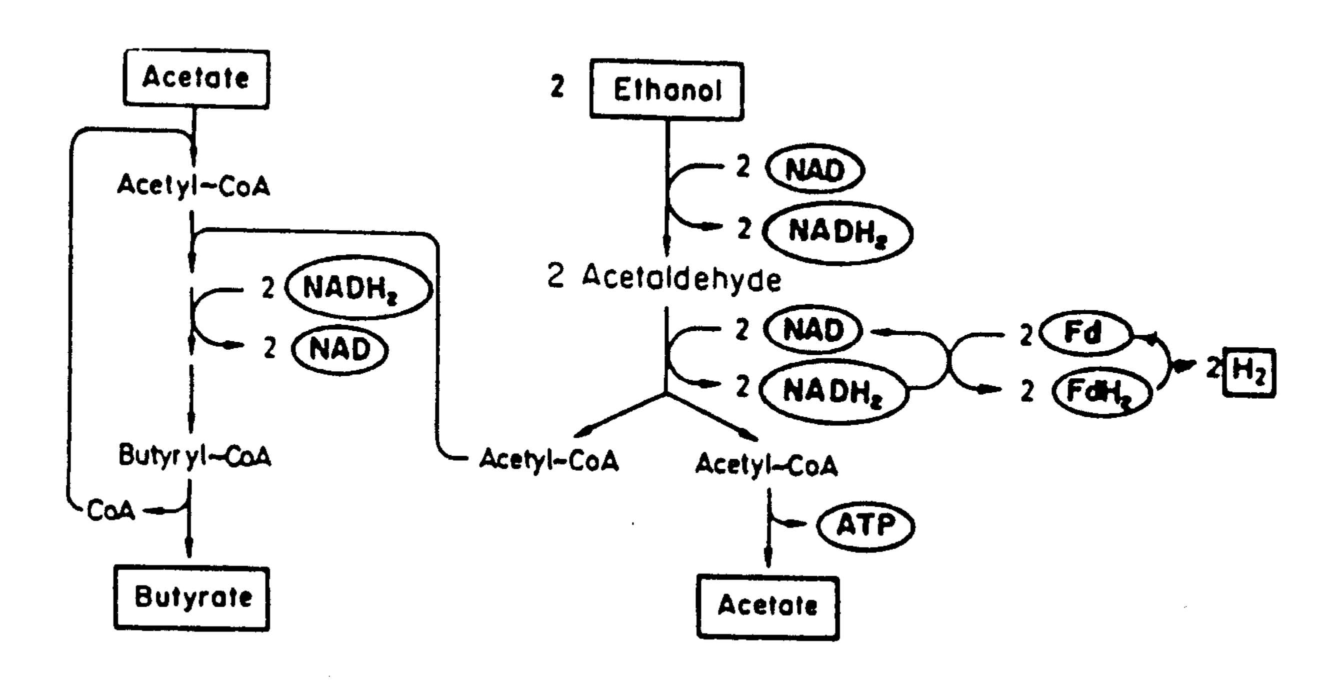
كمية الناتج بالمليجرام لكل ٥٠ ملليلتر من بيئة ماش الذرة

Ref. Schlegel H.G. 1995.

أ - ٢ - تخمر الاستيك والايثانول

تقوم بكتريا *Cl. kluyveri* بتمثيل الاسيتات والايثانول ، وتكوين البيوتريك والكابرويك والايدروجين ، ويعمل الاستيك كمستقبل إضافى للايدروجين ، إضافة الى ماينتج من الاستيك أثناء دورة التخمر ، ويخلق ATP بانزيم اسيتات كاينيز .

ويوضح الشكل [١١-٨] التخمر ببكتريا *Cl. kluyveri* .



شكل ١١-٨ : تخمر الإيثانول والأسيتات إلى بيوتيرات وإيدروجين بواسطة بكتريا *Clostridium kluyveri* .

$$\underset{\text{لاكتيك}}{CH_3\text{-}CHOH\text{-}COOH} + \underset{\text{أستيك}}{CH_3\text{-}COOH} \longrightarrow \underset{\text{بيوتريك}}{CH_3\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}COOH} + H_2O + CO_2$$

ب - الكلوستريديا المحللة للبروتينات

تضم هذه المجموعة ، أنواع الكلوستريديا القادرة على تحليل البروتينات والببتونات والأحماض الأمينية .

ففى غياب الكربوهيدرات ، تستطيع مجموعة من بكتريا الكلوستريديا تحليل البروتينات ، وهذه الأنواع البكتيرية مسئولة بصفة عامة عما يحدث فى الطبيعة من تعفن للمواد النتروجينية ، كما أن منها أنواعا ممرضة مثل

Cl. botulinum, Cl. histolyticum, Cl. perfringens, Cl. tetani

كما أن منها أنواعا غير ممرضة مثل *Cl. sporogenes* .

وتحتوى هذه الأنواع من الكلوستريديا المحللة للبروتينات ، على مجموعة من إنزيمات البروتييز Proteases وكذلك انزيمات التحليل المائى التى تحلل بها المواد البروتينية ، وتحصل هذه البكتريا على طاقتها من خلال تخمر الأحماض الأمينية .

ومن أكثر طرق تحلل الأحماض الأمينية شيوعاً بين بكتريا الكلوستريديا ، هو تخمر أزواج من الأحماض الأمينية أحدهما يعمل كمانح للإلكترونات ويتأكسد ، والآخر يعمل كمستقبل للإلكترونات ويختزل ، وهو مايعرف **بتفاعل ستكلاند** * ، والذى يمكن توضيحه بالتفاعل التزاوجى التالى بين الآلانين والجلايسين ، والذى تجريه بكتريا *Cl. sporogenes*

$$CH_3\text{-}CHNH_2\text{-}COOH + 2CH_2NH_2\text{-}COOH + 2H_2O \rightarrow 3\ CH_3COOH + 3\ NH_3 + CO_2$$

الانين (مانح للالكترونات) — جلايسين (مستقبل للالكترونات) — استيك

ونتيجة لتفاعلات الأكسدة ، تتكون جزيئات ATP اللازمة لطاقة البكتريا .

وتعمل الأحماض الأمينية التالية ، آلانين ، ايسوليوسين ، فالين ، ليوسين ، هستيدين كمانحة للايدروجين ، بينما تعمل الأحماض الأمينية التالية ، أرجنين ، برولين ، تربتوفان ، جلايسين ، سستئين كمستقبلة للايدروجين .

تحلل الأحماض الأمينية

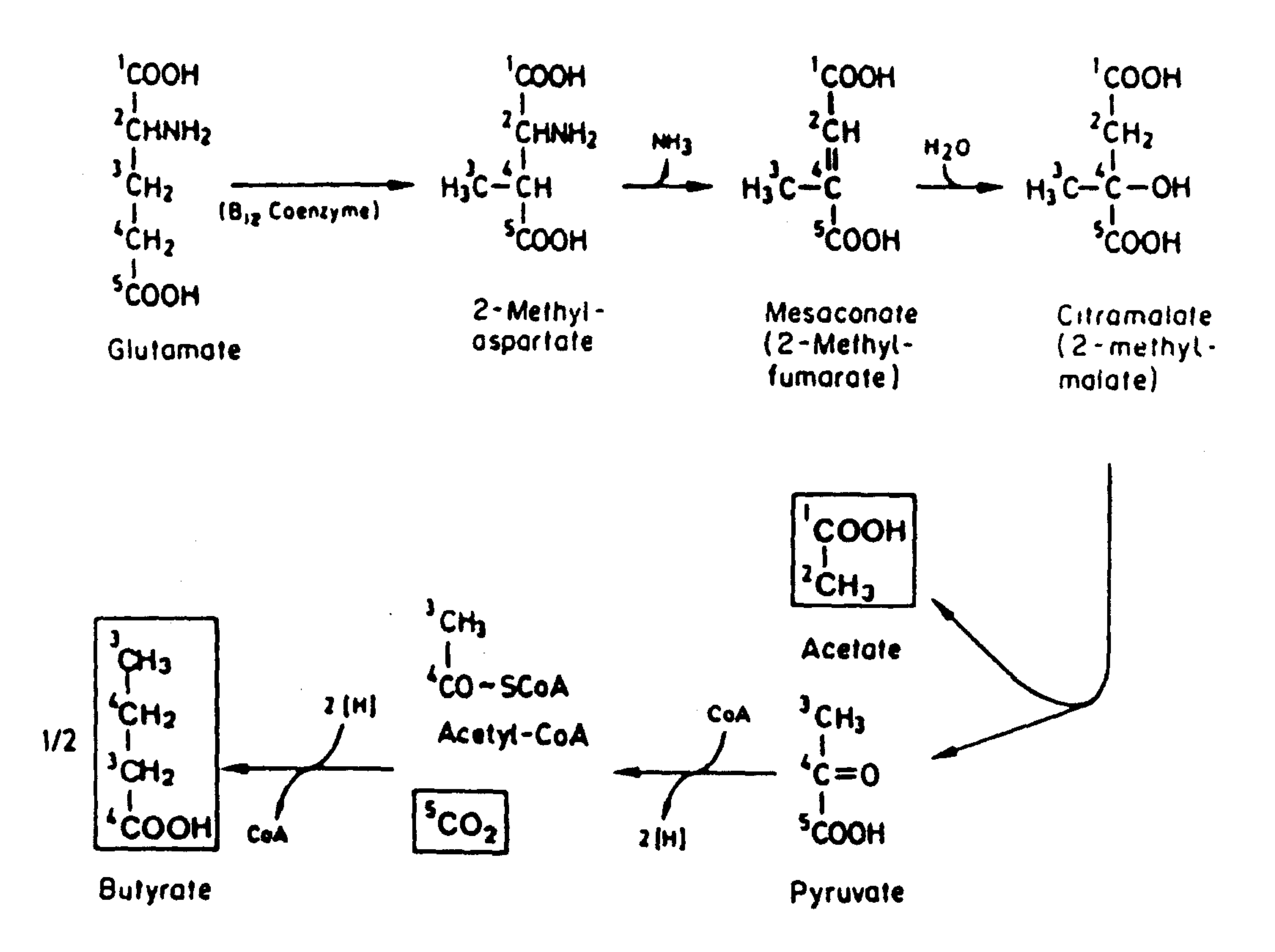
بالإضافة إلى تفاعل استكلاند التزاوجى بين نوعين من الأحماض الأمينية ، فإن بعض أنواع الكلوستريديا قادرة على تحليل أحماض أمينية منفردة Singly .

ويوضح الشكل [١١-٩] تخمر الحامض الأمينى الجلوتاميك تحت ظروف لاهوائية ، بواسطة بكتريا *Cl. tetanomorphum* من خلال دورة Mesaconate (2-methyl-fumarate) ، مع تحول الحامض الأمينى إلى أحماض دهنية كالبيوتريك والاستيك ، وتصاعد أمونيا وثانى أكسيد كربون وايدروجين .

---

* يعرف تفاعل ستكلاند ، باسم مكتشفه Stickland L.H. ، الذى لاحظه أثناء تجاربه على بكتريا *Cl. sporogenes* ، عام ١٩٣٤ .

وأنظر ص ٩٧١ .



شكل ١١-٩ : تخمر الجلوتاميك ببكتريا *Clostridium tetanomorphum* خلال دورة ميساكونات Mesaconate pathway (٢-ميثايل فيومارات) .

يلاحظ من دورة التحلل

١ - أهمية فيتامين B_{12} كمرافق انزيمى

٢ - نزع مجموعة الأمين في خطوة تحول مركب ٢-ميثايل اسبارات الى ٢-ميثايل فورمات (الميساكونات) ، مع تصاعد الأمونيا

٣- تجزؤ مركب ٢-ميثايل مالات إلى استيك وبيروفيك

٤- تحول البيروفيك إلى بيوتريك ، وتصاعد ثاني أكسيد الكربون

- ماتحته خط نواتج نهائية للدورة .

جـ - تخمر البيوتريك والاستيك بواسطة البكتريا غير المتجرثمة

Butyric and Acetic fermentation by non-sporeformers

هناك مجموعة من الأجناس البكتيرية اللاهوائية ، التى تنتمى من الناحية التخميرية إلى جنس كلوستريديا ، على الرغم من أنها سالبة لصبغة جرام وغير متجرثمة .

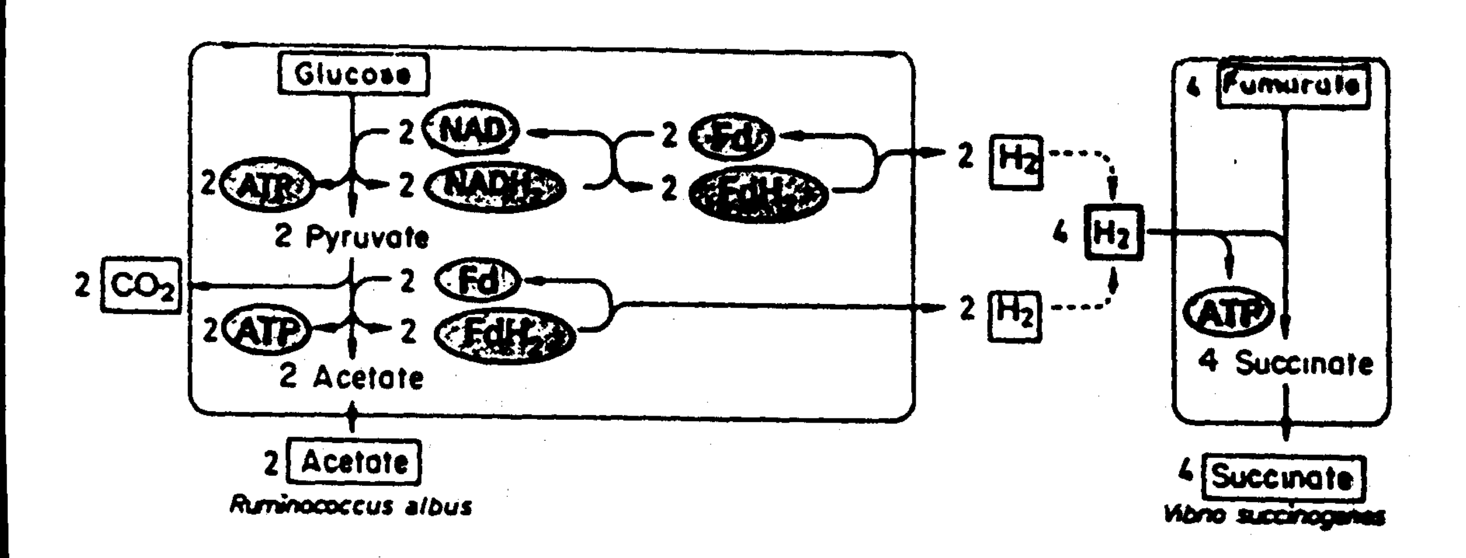
وقد أمكن عزل هذه البكتريا غير المتجرثمة ، المنتجة للبيوتريك والأستيك ، من كرش معدة الحيوانات المجترة ، حيث أنها تشارك أحياء الكرش الأخرى فى هضم المواد السليلوزية والنشوية وغيرها من المواد الكربوهيدراتية ، منتجة غازاتا من ثانى أكسيد الكربون والايدروجين بكميات كبيرة ، مما يوفر الظروف المناسبة لانتاج غاز الميثان ، بواسطة البكتريا اللاهوائية المنتجة لغاز الميثان المتواجدة أيضا بكرش المجترات .

ومن البكتريا اللاهوائية ، غير المتجرثمة ، المخمرة للسليلوز والكربوهيدرات

* *Butyrivibrio fibrisolvens* ، وهى بكتريا واوية ، توجد بكرش الحيوانات المجترة ، منتجة لحامض البيوتريك

* *Ruminococcus albus* ، وهى بكتريا كروية ، توجد بالكرش ، منتجة لحامض الأستيك ، وقادرة على تمثيل السليلوز والزيلان وسكريات أخرى ، حيث أنها يمكن أن تحول جزىء الجلوكوز الى ٢ جزىء استيك + ٤ جزىء من الايدروجين وثانى اكسيد الكربون .

ويتعايش مع الرومينوكوكاس بالكرش ، بكتريا *Vibrio succinogenes* ، وهذه البكتريا قادرة على استخدام الايدروجين الناتج من الرومينو كوكاس ، مما يزيد من كفاءة الرومينو كوكاس على التخمر ، مع انتاج بكتريا الفبريو للفورميك والسكسنيك [شكل ١١-١٠] .



شكل ١١-١٠ : تخمر الجلوكوز بواسطة مزرعة خليطة من *Ruminococcus albus* and *Vibrio succinogenes*

وتقوم بكتريا الفيبريو باستخدام الايدروجين الناتج من التخمر .

د - التخمر الاستيكى المتماثل : Homoacetatic fermentation

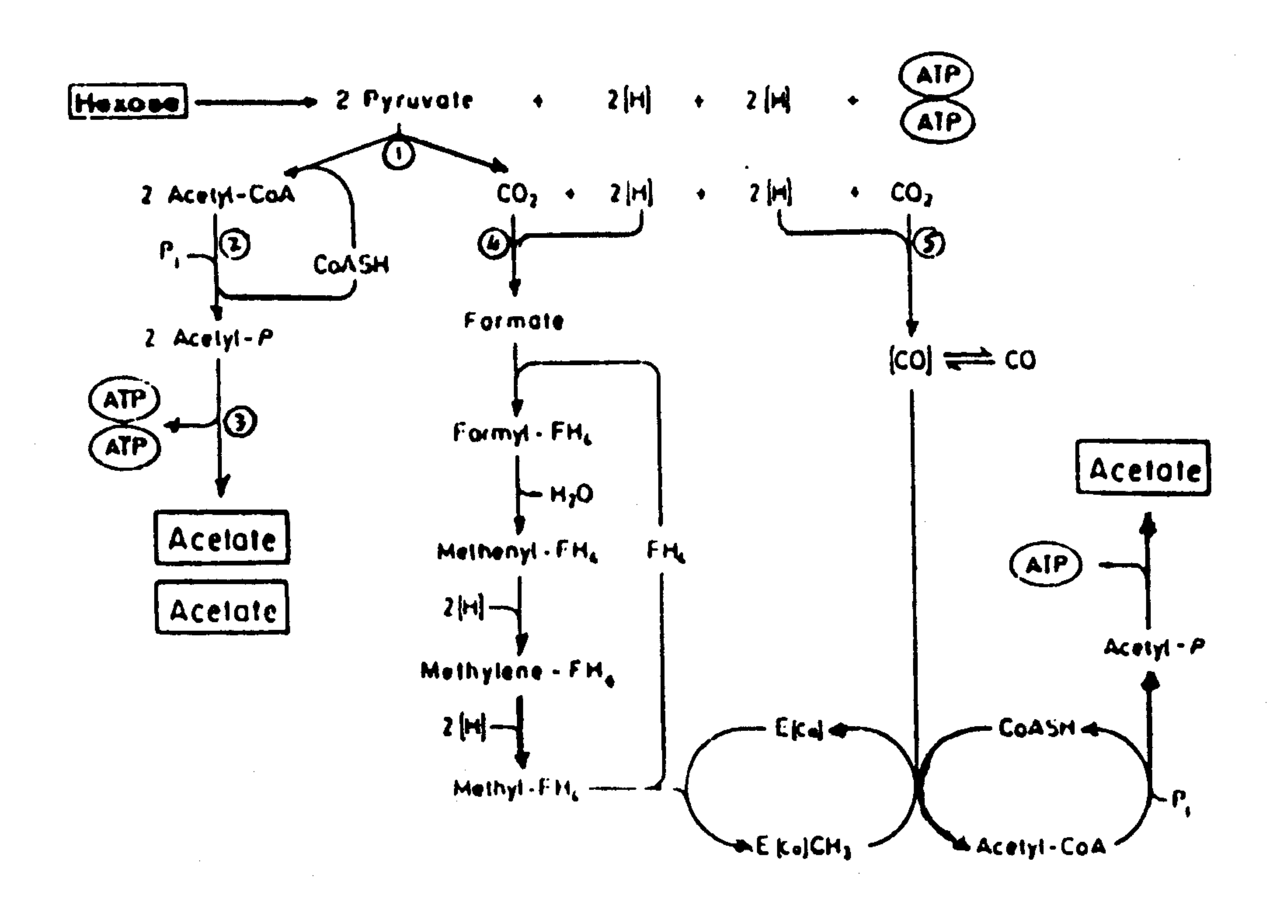
بعض أنواع الكلوستريديا مثل

Cl. acidi-urici, Cl. cylindrosporum, Cl. formico-aceticum, Cl. thermo-aceticum

تستطيع تحويل الايدروجين فى وجود ك أ٢ ، إلى استيك ، كما هو موضح بالمعادلة

$$8\,[H] + 2\,CO_2 \longrightarrow CH_3\text{-}COOH + 2\,H_2O$$

ويتم تخمير الجلوكوز خلال دورة فركتوز داى فوسفات ، إلى أستيك ، مع تكون ٣ مول اسيتات لكل واحد مول جلوكوز ، وينتج الجزء الأكبر من ك أ٢ من البيروفات نتيجة نزع ك أ٢ ، ويعـاد تثبيت ك أ٢ ويعمل كمستقبل للايدروجين ، كما هو موضح بالشكل [١١-١١] .



شكل ١١-١١ : تخليق الأسيتات من الجلوكوز ببكتريا *Clostridium thermoaceticum* عــن طريــق دورة اسيتايل CoA .

تابع شكل ١١-١١ :

الانزيمات المشاركة

(1) Pyruvate : ferrodoxin oxidoreductase
(2) Phosphotransacetylase
(3) Acetate kinase
(4) Formate dehydrogenase
(5) CO dehydrogenase

المختصرات

E (Co) : Corrinoid protein .... بروتين كورينويد (بروتين المرافق الإنزيمى Co B_{12})
FH_4 : Tetra hydrofolic .... تتراهيدروفوليك
[H] : Hydrogen equivalent as $NADH_2$ or as FdH_2, CO_2, (CO) .... إيدروجين مكافيء
FdH_2 : Reduced ferrodoxin .... فرودوكسين مختزل
CO : Exogenous carbon monoxide .... ك أ من الخارج
(CO) : Bound CO .... ك أ مرتبط

ويلاحظ من الشكل

- تحول الهكسوز الى بيروفيك من خلال دورة فركتوز داى فوسفات
- تحول البيروفيك الى استيك و CO_2 ، FdH_2 ، ATP ، بواسطة انزيمات (١ ، ٢ ، ٣) .
- يعمل CO_2 كمستقبل للايدروجين ، ويختزل كما يلى
.. يتم إختزال جزء من CO_2 بانزيم (٤) ، الى فورميك ، الذى يكون مجموعـة الميثـايل فـى ذرة الكربون الثالثة للإسيتايل
.. ويتم إختزال جزء من CO_2 بانزيم رقم (٥) الى CO ، الذى يكون مجموعـة الكربوكسـيل فـى الأستيك

ويتطلب إختزال مجموعة الفورمايل الى ميثايل ، مشاركة مرافق انزيمى هو تتراهيدروفوليك FH_4

- تحول مجموعة الميثايل الى بروتين – كورينويد Corrinoid-protein (بروتيـن المرافـق الانزيمـى Co B_{12}) ، ثم يضاف للبروتين مجموعة CO ، ويتكون اسيتايل CoA ، الذى يتخلق منه الاستيك ، مع تكون ATP .

وتعرف هذه الدورة الإختزالية ، لتخليق اسيتايل CoA من CO_2 والايدروجين ، بدورة أسـيتايل CoA ، Acetyl – Co A pathway ، وهى دورة شائعة فى البكتريا اللاهوائية ، كمـا فـى البكتريـا المنتجة للميثان Methanogens ، والبكتريا المنتجة للاستيك Acetogens .

٦ - المنتجات الطبيعية القابلة وغير القابلة للتخمر

Fermentable and non-fermentable natural products

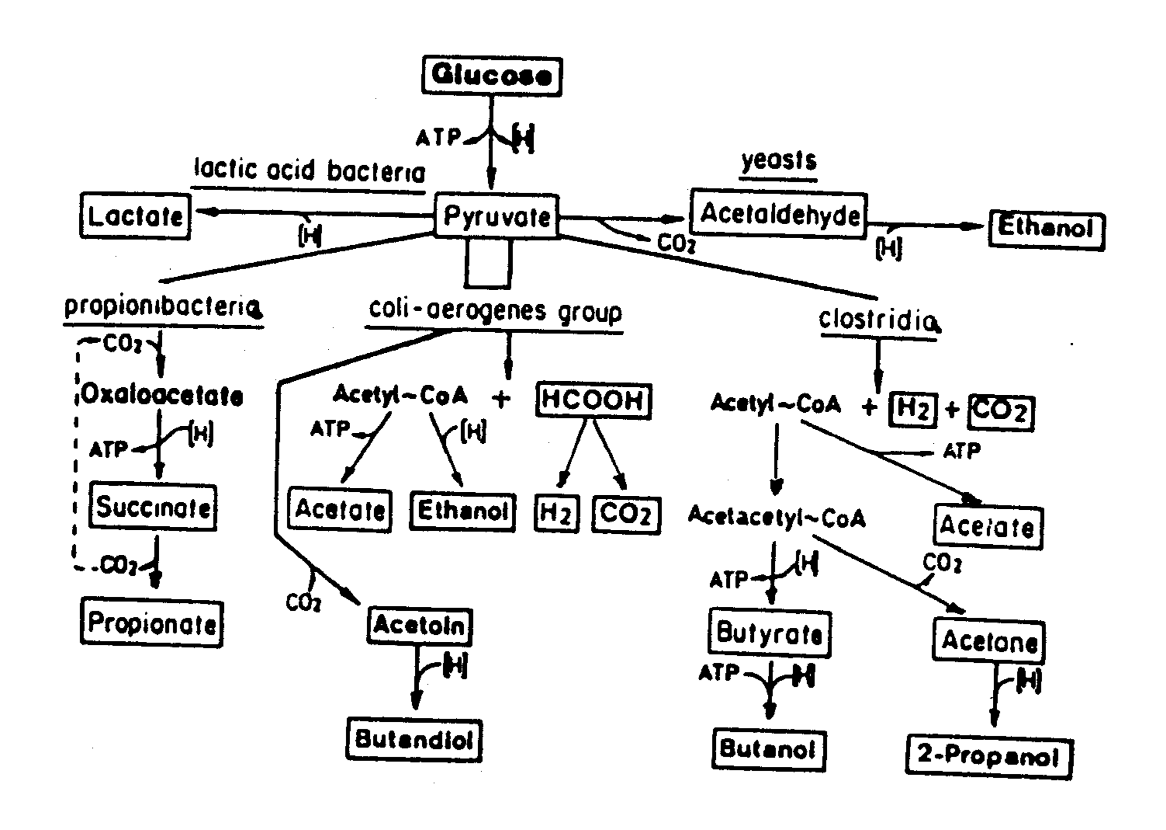
معظم المنتجات الطبيعية التى تتكون من كربون وأكسجين وايدروجين ، و/أو نتروجين قابلة للتخمر تحت الظروف اللاهوائية ، وذلك بشرط إمكانية حدوث أكسدة جزئية لمادة التفاعل، وهذا يتم بواسطة تفاعلات منتجة للطاقة ، تأتى من حدوث كسر بداخل جزىء المركب .
وعلى ذلك فإن السكريات ، الكحولات ، الأحماض العضوية ، الأحماض الأمينية ، والقواعد النتروجينية قابلة للتخمر ، باستثناء الأحماض الأمينية العطرية التى تتخمر تحت ظروف خاصة.

وعلى النقيض من ذلك ، فإن هناك بعض المركبات الغير قابلة للتحلل البيولوجى تحت الظروف اللاهوائية ، مثل مركبات الهيدروكربون الاليفاتية أو الأروماتية ، والستيرويدات ، والكاروتينويدات ، والبورفرينات والأحماض الدهنية المشبعة ، وذلك على الرغم من أن هذه المركبات قابلة للأكسدة تحت الظروف الهوائية .

ويرجع ثبات المواد الغير قابلة للتحلل الى سببين

- أن معظم هذه المركبات تحتوى على ذرات كربون وايدروجين فقط ، وعلى ذلك فإنه لاتكتسب طاقة من حدوث كسر بداخل جزىء المركب Intramolecular cleavage .
- تتأكسد معظم هذه المركبات بواسطة الأكسجين الجزيئى فقط ، وتتم الخطوة الأولى فى وجود انزيم Oxygenase .

ويوضح الشكل [١١-١٢] ملخصا لتفاعلات ومنتجات ، معظم التخمرات الهامة .



شكل ١١-١٢ : ملخص للتفاعلات والمنتجات التى تتم بواسطة معظم التخمرات الهامة .

References   مراجع الباب الحاى عشر

Brown C.M. and I. Campbell (1985). Introduction to Biotechnology, Blackwell, Oxford, U.K.

Demain A.L. and N.A. Soloman (eds.) (1986). Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology. American Society for Microbiology, Washington D.C.

McNeil B. and L.M. Harvey (1990). Fermentation, A Practical Approach. IRL Press, Oxford Univ. Press, Oxford.

Pelczar M.J.Jr.; E.C.S. Chan and N.R. Krieg (1999). Microbiology. McGraw-Hill Book Co. Inc., New York.

Purohit S.S. (2000). Microbiology, Fundamentals and Applications, Agrobios, New Delhi, India.

Schlegel H.G. (1995). General Microbiology, 7th Ed.,Cambridge Univ. Press. New York.

Zehnder A.J.B. (ed.) (1988). Biology of Anaerobic Microorganisms. John Wiley and Sons, Inc., New York.

(الباب الثانى عشر)
الميكروبـــــات والنظام البيئى

المحتويـــات

(الباب الثانى عشر)

الميكروبات والنظام البيئى
Microbes and the Ecosystem

مقدمـــــة

يتكون أى نظام بيئى Ecosystem من مكونين أساسيين ، هما مجتمع الكائنات الحيـــة العائشة بذلك النظام ، والمكونات غير الحية الموجودة به ، من مواد طبيعية وكيميائية . وتعتبر الكائنات المجهرية أى الميكروبات الموجودة فى وسط معين ، جزءا من ذلك النظـــام البيئـــى ، ونتيجة لذلك التواجد ، فإنه ينشأ الكثير من العلاقات المتبادلة بين الكائنات المجهرية والأوســـاط الطبيعية التى تعيش بها ، من هواء ومياه وأراضى ، وأغذية وألبـــان ، وتخمـــرات صناعيـــة وأمراض ... وغيرها .

ومنذ قديم الزمان ، والأحياء المجهرية تلعب دورا رئيسياً فى كثـــير مـــن العمليـــات الحيوية ، التى تتم بالأوساط المختلفة ، كالأراضى (مثل تحليل المواد المعقدة وتثبيت نـــتروجين الهواء الجوى وتكوين الدبال) ، والغذاء (كما فى صناعة الخبيز والألبان المتخمـــرة والجبـــن) ، والتخمرات (مثل انتاج البيرة والنبيذ والمخللات) ، والنسيج (مثل تعطين الكتان والتيل والقنـــب) ... وفى غيرها من العمليات .

ورغم ذلك ، فإن دور الأحياء المجهرية فى تحويل المادة العضوية ، لم يعرف إلا بـــدءاً مـــن منتصف القرن التاسع عشر ، ومنذ ذلك الحين ، فقد أدى التقدم فى علم الميكروبيولوجيا ، وتوفر المعلومات عن فروع ذلك العلم ، والعلوم المرتبطة به ، أدى الى تفسير الكثير من العمليات التى تتم بواسطة الأحياء المجهرية ، والى تطوير تلك العمليات ، وتحسينها والنهوض بها ، ممـــا أدى الى تقدم الكثير من الصناعات التى تعتمد على استثمار الأحياء المجهرية ، والى استخدام كائنات دقيقة لم تكن تستخدم من قبل لانتاج مواد حيوية ، مثل البادئات والانزيمات والمضادات الحيويـــة وغيرها .

ومن ناحية أخرى ، فإننا نجد أن الإنسان يحيط به ، عدد وافر من الميكروبات ، بعضها يقطـــن بالجسم بشكل طبيعى ، والبعض الآخر ممرض ويسبب للإنسان مشـــاكل صحيـــة ومرضيـــة ، وتظهر أعراض المرض على الشخص ، كنتيجة للعلاقات المتبادلة بين الميكـــروب الممـــرض والعائل القابل للإصابة . وبدءاً من النصف الثانى من القرن التاسع عشر ، فقد أكتشـــف الكثـــير من المسببات المرضية الميكروبية ، وأصبح الآن عملاً روتينياً ، فى أى معمـــل متخصـــص ، عزل الميكروب المسبب للمرض ، ودراسة خواصه ، ومعرفة طرق الوقايـــة منـــه ، وكيفيـــة مقاومته ، وعلاج مايسببه من أضرار .

وفى صفحات الفصول الأربعة التالية من هذا الباب ، وكذلك فى الباب الثـــالث عشـــر التالى ، سنستعرض بإيجاز الدور الذى تلعبه الأحياء المجهرية فى الوسط الموجوده به من ميـــاه وأراضى وأغذية وألبان وغيرها من مواد ، وكذلك ماتسببه من أمراض للإنسان .



(الباب الثانى عشر - الفصل الأول)

الميكروبات والأوساط المختلفة

المحتويــات

الموضوع	الصفحة

المحتويات

الموضوع	الصفحة

(الباب الثانى عشر - الفصل الأول)

الميكروبات والأوساط المختلفة

١- الميكروبات والمياه Microbes and Water

محتوى المياه من الميكروبات

فى البحيرات والأنهار الخالية من التلوث بالمخلفات ، تكون المياه رائقة شبه نقية ، ونسبة العناصر الغذائية بها قليلة ، وأعداد الميكروبات بها محدود ، وتتضمن هذه الميكروبات ، أنواع من بكتريا التربة المترممة مثل تلك التابعة لأجناس *Achromobacter, Flavobacterium, Micrococcus, Proteus, Pseudomonas, Spirillum* and *Bacillus*.

وقد نجد أيضا بكتريا مثل الأزوتوباكتر وبكتريا النترتة ، كما تنمو أيضا البكتريا ذات السوق مثل *Caulobacter* ، والبكتريا المتبرعمة *Hyphomicrobium* ، والبكتريا الشبيهة بالطحالب Chlamydobacteria قرب الشواطىء ، وعلى أسطح الصخور .

وفى المياه الملوثة بمخلفات المجارى ، تنمو الآلاف من المجهريات ، التى منها البكتريا المعوية وبكتريا التربة المترممة ، بالإضافة إلى الكثير من الأكتينومايسيتات والخمائر والفطريات والبروتوزوا والفيروسات المعوية .

وفى طين قاع المياه الملوثة ، فإن جهد الأكسدة والإختزال يكون منخفضا ، وتنمو البكتريا اللاهوائية مثل *Clostridium* ، والبكتريا المختزلة للكبريت مثل *Desulfovibrio* .

ويوجد فى مياه البحار ، أنواع من البكتريا المنتجة للضوء بطريقة حيوية ، وهى بكتريا محبة للبرودة ، والملوحة ، ومعظمها سالب لصبغة جرام ، وتعيش فى حالة تعاون مع الكائنات البحرية كالأسماك ، ومن أنواع هذه البكتريا المضيئة *Photobacterium phosphoreum & Vibrio pierantonii* ، (أنظر ص ٤٤٤ و ٨٨٥)

دور الأحياء المجهرية فى الأوساط المائية

من الأدوار الهامة التى تقوم بها الكائنات المجهرية فى الأوساط المائية ، مايلى

- قيام الكائنات المجهرية ، خاصة السيانوبكتريا والطحالب والكائنات الممثلة للضوء ، بتكوين المادة العضوية اللازمة لنمو الكائنات الأخرى غير الممثلة للضوء ، وتوفير البلانكتون اللازم لتغذية الكائنات البحرية والنهرية .
- قيام الكائنات المجهرية الهتيروتروفية بتحليل المواد العضوية الموجودة بالمياه ، ومعدنتها الى ثانى أكسيد كربون وماء ، وعناصر غذائية كالنتروجين والفوسفور والكبريت ومعادن ، وهذه النواتج عناصر غذائية ضرورية لنمو النباتات بما فى ذلك البلانكتون النباتى .
- تحت الظروف اللاهوائية* ، تنتج الكائنات المجهرية موادا مختزلة كالميثان والايدروجين وكبريتور الايدروجين ، وذلك بالإضافة إلى ثانى أكسيد الكربون والأمونيا والفوسفات .

---

* راجع الباب العاشر ، الفصل الثالث والرابع .

• ترسيب الكائنات المجهرية التى لها جدار من السليكا ، مثل طحالب الدياتومات وأنواع من البروتوزوا ، كميات كبيرة من المواد الدياتومية Diatomaceous materials فى قاع البحر ، وتدخل هذه الرواسب فى كثير من الصناعات .

مياه الشرب

تحصل معظم المجتمعات على المياه اللازمة للشرب ، من المياه السطحية ، كمياه الأنهار والبحيرات، وهى مياه عرضة للتلوث من مخلفات المنازل والمزارع والمصانع ، وتزداد حدة مشاكل التلوث بازدياد عدد السكان ، لزيادة ماينتج عنهم من مخلفات .

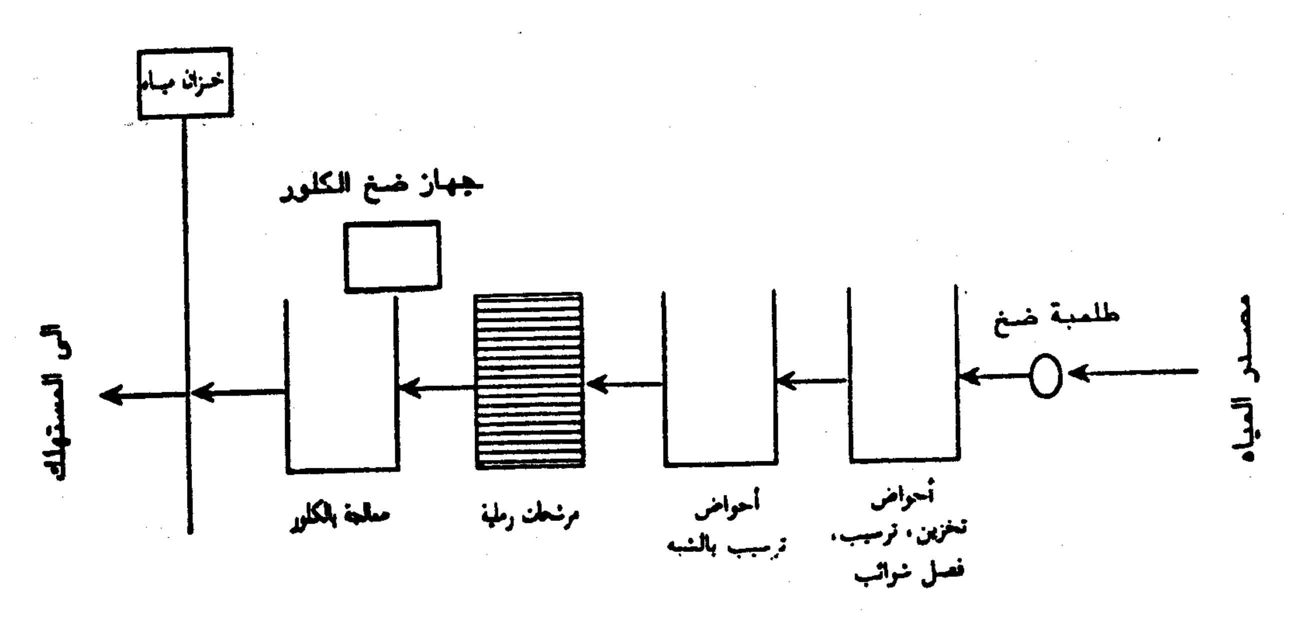
ويعتبر الماء صالحاً للشرب Potable water ، إذا كان عديم اللون والطعم والرائحة ، خالياً من المواد المعلقة والمواد الكيميائية والمواد المشعة ، والميكروبات المرضية .

وتصل الميكروبات المرضية الى مياه الشرب ، من التلوث بمياه المجارى ، الحاملة لبول وبراز المرضى وحاملى العدوى . ومن الميكروبات المنقولة بواسطة مياه الشرب ، الميكروبات المعوية المرضية ، مثل بكتريا التيفود والكوليرا والدوسنتاريا ، وفيروسات شلل الأطفال والالتهاب الكبدى الوبائى ، والبروتوزوا المعوية الممرضة (راجع الميكروبات وأمراض الانسان ، أمراض تنتقل عن طريق الأغذية والمياه ، الباب ١٣ ، جدولى ١٣-٢ و ٣ ، ص ص ١٠٣٩-١٠٤٦).

تنقية مياه الشرب

اذا لم يتيسر الحصول على مصدر ماء خالى من التلوث ، فإنه يجب أن تجرى عمليات تنقية للمياه ، حتى يصبح صالحاً للاستهلاك الآدمى .

ويوضح الشكل [١٢ (١) - ١] الخطوات الأساسية لتنقية المياه .



شكل ١٢ (١) - ١ : الخطوات الأساسية لتنقية المياه .

فى خطوة معالجة المياه بالكلور ، يحدث التفاعل التالى

$$Cl_2 + H_2O \longrightarrow HCl + HOCl \text{ (Hypochlorous acid)}$$

$$HOCl \longrightarrow HCl + O \text{ (Nascent oxygen)}$$

وبذلك ينتج أكسجين نشط حديث التولد قادر عن طريق الأكسدة ، على قتل الأحياء الدقيقة الموجودة بالمياه ، وهذا بالإضافة الى أن للكلور تأثير قاتل ، عن طريق إتحاده المباشر ببروتين الخلية الميكروبية .

وتقوم بعض الدول عقب معالجة المياه بالكلور ، بإضافة الفلور الى ماء الشرب قبل توزيعه على المستهلكين ، لما له من تأثير على تقليل نسبة التسويس فى الأسنان خاصة فى الأطفال الصغار ، الذين مازالت أسنانهم فى مرحلة التكوين ، ويعود تأثير الفلور على منع التسويس ، الى إتحاده المباشر مع مادة الأسنان نفسها ، وإلى تداخله مع إنزيمات البكتريا المنتجة للأحماض الموجودة بالفم ، المسببة للتسويس .

الكشف بالمياه عن الميكروبات المرضية

يستدل على الميكروبات المرضية الموجودة بالمياه ، بالإختبار لوجود كاشفات التلوث الحيوية Bioindicators مثل بكتريا *Escherichia coli* ، فوجود هذه الكاشفات الحيوية بالمياه ، وهى بكتريا معوية مصدرها برازى ، يؤخذ كدليل على تلوث مياه الشرب بمخلفات المجارى ، مما يعنى إحتمال وجود ميكروبات مرضية معوية بمياه الشرب الجارى فحصها .

بكتريا *E. coli* من مجموعة بكتريا القولون ، مصدرها برازى وقادرة على تحليل سكر اللاكتوز ، وتتشابه فى صفاتها مع بكتريا *Enterobacter aerogenes* ، والأنتروباكتر من مجموعة بكتريا القولون وقادرة أيضاً على تحليل سكر اللاكتوز ، ولكن مصدرها غير برازى ، لذلك فإنه عقب الكشف عن مجموعة بكتريا القولون بالمياه ، فإنه يجب التمييز* بين البكتريا البرازية Fecal وغير البرازية Non-fecal ، حتى يمكن الحكم بدقة على حقيقة تلوث مياه الشرب بمياه المجارى ، ويمكن معرفة الخطوات العملية لإجراء هذه الاختبارات ، بالرجوع الى أحد المراجع المتخصصة ، مثل

Csuros Maria and C. Csuros (1999). Microbiological Examination of Water and Wastewater. Lewis Publisher, New York.

APHA 1998.
Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 20th Ed. Published by American Public Health Association, Washington, D.C.

* أنظر اختبارات الايمفيك ص ٨٨٠

مياه المخلفات : Wastewater

مياه المخلفات هى المياه الناتجة عن استعمال مجتمع من المجتمعات ، وهى تشمل كلا من مياه مخلفات المنازل ، ومياه مخلفات المزارع والحدائق ، ومياه مخلفات المصانع ، والمياه الجوفية والسطحية والجوية التى تصل الى مواسير صرف المدينة .

وتختلف مياه مخلفات المصانع والمزارع من موقع لآخر ، ومن وقت لآخر ، لذلك سنقتصر حديثنا فى السطور التالية على مياه مخلفات المنازل ، أى مياه مخلفات المجارى .

مياه مخلفات المجارى : Sewage water

تتكون مخلفات مياه المجارى من حوالى ٩٩,٩% ماء ، وحوالى ٠,١% مواد صلبة معلقة ، ورقمها الايدروجينى يتراوح بين ٦ الى ٨ ، ويختلف كثيراً التركيب الكيميائى للمواد المعلقة ، غير أن أغلبها مواداً عضوية ، بالإضافة إلى ماتحتويه من مخلفات الصابون ومواد التنظيف التركيبية التى أخذت فى الانتشار .

ونظراً لإختلاف تركيب مياه مخلفات المجارى ، فإن ماتحمله تلك المخلفات من أحياء مجهرية وغير مجهرية عرضة للتغير أيضا نوعا وعدداً ، وعموماً فان المخلفات تحتوى على فيروسات وبكتريا وطحالب وفطريات ، وبروتوزوا ، بالإضافة الى الطفيليات .

وتصل أعداد البكتريا بمياه المجارى الى الملايين فى كل ملليلتر مياه ، ومعظمها يتبع بكتريا القولون ، ويليها فى العدد الاستربتوكوكاى ، ثم العضويات المتجرثمة اللاهوائية مثل *Clostridium perfringens* .

وبالإضافة الى ذلك ، فإنه يوجد بمياه المجارى ميكروبات مرضية ، مثل تلك المسببة لأمراض التيفود والكوليرا والدوسنتاريا ، وشلل الأطفال ، والالتهاب الكبدى الوبائى .

(راجع أمراض تنتقل عن طريق الأغذية والمياه ، بالباب ١٣ ، جدولى ١٣- ٢ و ٣ ، ص ص ١٠٣٩ - ١٠٤٦) .

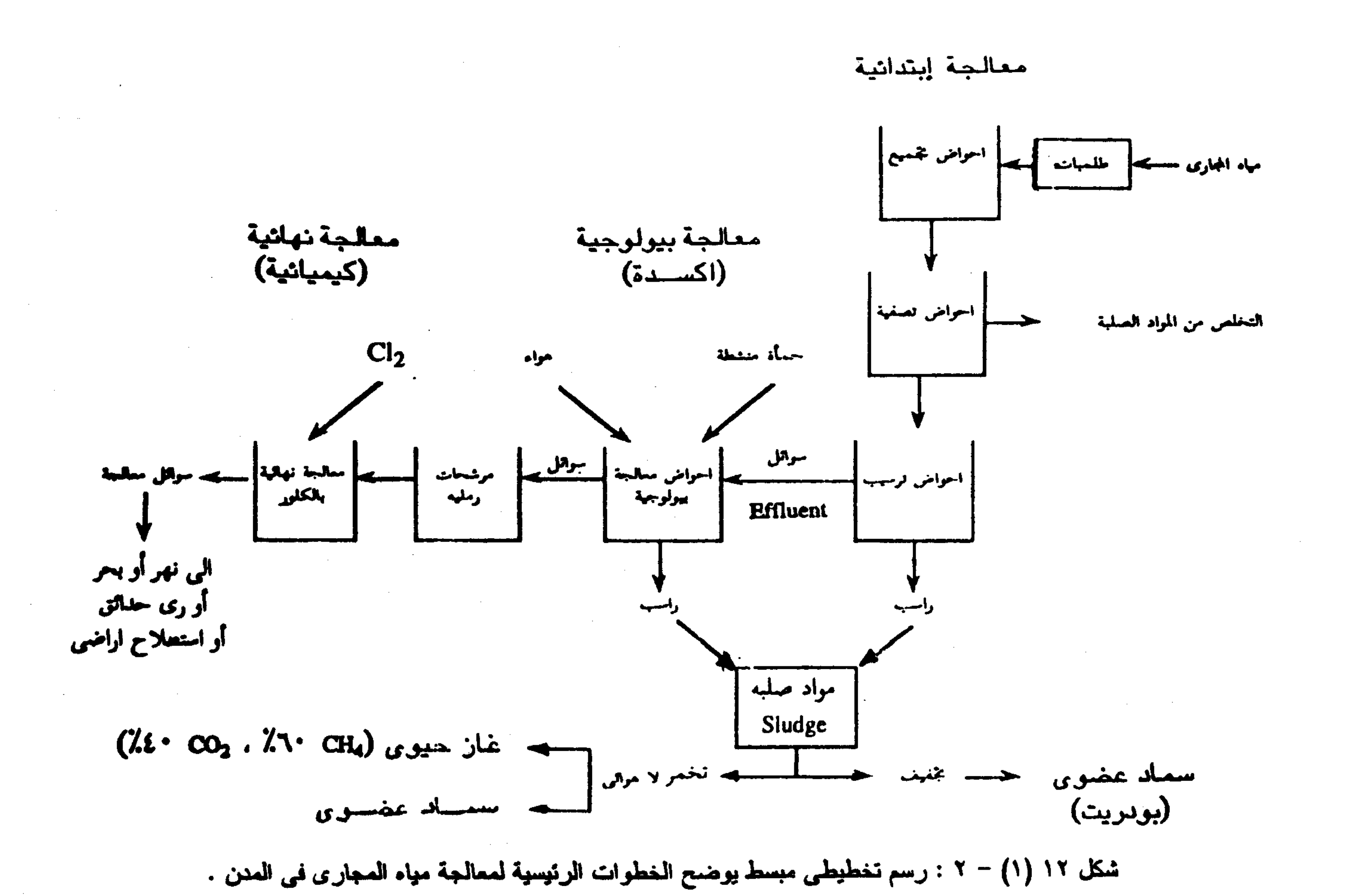
معالجة مياه المجارى

معالجة مياه المجارى قبل التخلص منها ، تعتبر عملية ضرورية ، وذلك لمنع تلوث مياه الشرب ، ومنع انتشار الميكروبات المرضية ، واستعمال المخلفات كأسمدة عضوية ، أو فى انتاج الغاز الحيوى (الميثان) كبديل للطاقة ، كما أن التخلص من المواد العضوية يحمى البيئة من التلوث ، مما ينتج عن تحللها من روائح كريهة ورواسب غير مقبولة .

ويوضح الشكل[١٢ (١) - ٢] خطوات المعالجة الرئيسية لمياه المجارى التى تجرى فى المدن .

وبعد المعالجة ، يستفاد من السوائل Effluent الناتجة ، فى رى الأشجار ، أو يتخلص منها بإلقائها فى نهر أو بحر .

أما المواد الصلبة Sludge ، فيستفاد منها كسماد عضوى أو فى انتاج الغاز الحيوى (البيوجاز) ، (راجع الغاز الحيوى ، بالباب ١٢ ، الفصل ٤ص ١٠٠٥ ومايليها) .



شكل ١٢ (١) - ٢ : رسم تخطيطى مبسط يوضح الخطوات الرئيسية لمعالجة مياه المجارى فى المدن .

٢- الميكروبات والأراضى Microbes and Soil

أحياء التربة المجهرية

يوجد بالتربة الزراعية الملايين من الأحياء الدقيقة ، التى تشمل البكتريا والفطريات والطحالب والبروتوزوا ، بالإضافة الى الفيروسات ، ويختلف أعداد وأنواع هذه الكائنات بإختلاف التربة ، وبإختلاف ظروفها البيئية .

وتلعب أحياء الأراضى المجهرية ، دورا أساسيا فى المحافظة على خصوبة التربة ، وعلى إمداد النباتات النامية بإحتياجاتها الغذائية ، من خلال معدنتها للمواد العضوية ، وتيسيرها للعناصر الغذائية ، وتثبيت النتروجين الجوى ، وتكوين الدبال ، وإفرازها للكثير من المواد المشجعة للنمو ، ومقاومتها للمسببات المرضية .

وتحت ظروف معينة ، مثل سيادة الظروف اللاهوائية بالتربة ، أو نقص العناصر الغذائية بها ، قد تتنافس ميكروبات التربة مع النباتات النامية ، على العناصر الغذائية الموجودة بالتربة ، أو تفرز الميكروبات موادا ضارة بنمو النبات ، أو تسبب أمراضا للنباتات المنزرعة ، مما يؤثر على إنتاجية الأراضى .

توجد الميكروبات بالتربة كمجتمع خليط ، بأعداد وفيرة وأنواع متعددة ، وينشأ بينها وبين بعضها ، وبينها بين النبات ، العديد من العلاقات المتبادلة ، بعضها مفيد مثل علاقات التعايش والتكافل ، وبعضها ضار مثل علاقات التنافس والتضاد والإفتراس ، وتسبب هذه العلاقات تغيرات مستمرة بين مجموعات الأراضى الميكروبية ، وتؤدى فى النهاية الى حدوث حالة إتزان بيولوجى ، هو محصلة علاقات التعاون والتضاد بين تلك المجاميع الميكروبية .

دور الأحياء المجهرية فى التحولات البيوكيميائية بالتربة

تقوم ميكروبات الأراضى بتحويل المواد العضوية المعقدة ، الى مركبات معدنية بسيطة ، وتسمى هذه العملية بالمعدنة Mineralization ، وتوفر هذه العملية العناصر الغذائية للميكروبات والنبات والحيوان والانسان .

وتصل المواد العضوية الى التربة من مصادر عديدة ، منها المخلفات النباتية (وهى أهم تلك المصادر) ، والمخلفات الحيوانية ، والمخلفات الميكروبية ، والتسميد العضوى .

وتتحلل المواد العضوية بتأثير الميكروبات ، فتختفى المواد السريعة التحلل أولا ، ثم يبطؤ التحلل تدريجياً ، ويتبقى فى النهاية المواد الصعبة التحلل ، التى تكون مع المخلفات الميكروبية وبعض معادن الطين ، مادة الدبال ، التى تؤثر على خواص التربة الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية .

ويتضح الدور الذى تلعبه ميكروبات الأراضى * ، فيما تقوم به فى التربة من تكوين للدبال ، وفيما تجريه من تحولات بيوكيميائية ، كما فى دورات الكربون والنتروجين والكبريت والفوسفور وغيرها من العناصر ، ومن تحلل للمواد الطبيعية Natural substances ، كالنشا والسليلوز والجلوكونات ، والبكتين والكيتين واللجنين والهيدروكربونات والبروتينات ، وفيم تقوم به تلك الميكروبات من تثبيت لنتروجين الهواء الجوى ، سواء وهى فى حالة المعيشة الحرة أوالمعيشة التكافلية ، إضافة إلى استخدامها فى انتاج لقاحات التسميد الحيوى والمبيدات الحيوية .

والناتج النهائى لتحلل المواد الكربونية تحت الظروف الهوائية ، نتيجة الأكسدة الكاملة ، هو H_2 و CO_2 ، ولكن تحت الظروف غير المناسبة ، كوجود ظروف لاهوائية ، فإن أكسدة المواد العضوية الكربونية تكون أكسدة غير كاملة ، ينتج عنها موادا وسطية من كحولات (مثل الايثانول والبروبانول والبيوتانول) ، وأحماض عضوية (مثل الاستيك والفورميك والبيوتريك واللاكتيك) ، وغازات (مثل $CO_2, H_2, CH_4, H_2S, NH_3$) ، كما قد يحدث تحت تلك الظروف غير المناسبة ، فقدا للنتروجين من التربة ، وهى عملية غير مرغوب فيها زراعياً .

ويحدث **فقد النتروجين بيولوجياً** من التربة ، بواسطة أنواع كثيرة من البكتريا ، حيث تعمل النترات ، فى حالة غياب الأكسجين ، كمستقبل للإيدروجين الناتج من أيض هذه البكتريا ، ويتم الفقد البيولوجى بطريقتين :

- **انطلاق النتروجين Denitrification**

وفى هذه العملية تختزل النترات إختزالاً كاملاً الى نتروجين غازى

$$2NO_3^- \longrightarrow 2NO_2^- \longrightarrow 2NO \longrightarrow N_2O \longrightarrow N_2$$

Nitrate **Nitrite** **Nitric oxide** **Nitrous oxide** **Nitrogen**

- **اختزال النترات : Nitrate reduction**

وفى هذه العملية تختزل النترات الى أمونيا ، فى عملية ، هى عكس عملية التأزت

$$HNO_3 + 4H_2 \longrightarrow NH_3 + 3H_2O \text{ ; i.e } NO_3^- \longrightarrow NO_2^- \longrightarrow NH_3$$

ومن البكتريا التى تقوم بالتفاعلات السابقة ، أنواع تابعة للأجناس التالية

Achromobacter, Alcaligenes, Bacillus, Chromatium, Hyphomicrobium, Pseudomonas, Thiobacillus and *Vibrio*

---

* راجع تثبيت النتروجين بالباب العاشر ، الفصل السابع ، وص ١١٠٣ ومايليها
وراجع التنفس النتراتى بالباب العاشر ، الفصل الثالث
وراجع تكون الميثان بالباب العاشر ، الفصل الثالث
وراجع مانحات الايدروجين غير العضوية ، بالباب العاشر ، الفصل الرابع
وراجع تحلل المواد الطبيعية ، وتكوين الدبال والهيدروكربونات العطرية ، بالباب الثانى عشر ، الفصل الثانى
وراجع الميكروبات والمنتجات الحيوية (الغاز الحيوى ، لقاحات الأسمدة الحيوية ، المبيدات الحيوية) ، بالباب الثانى عشر ، الفصل الرابع
وراجع أهمية السيانوبكتريا بالباب السابع عشر .

٣- الميكروبات والأغذية Microbes and Foods

ترتبط الميكروبات بكل أنواع الأغذية التي نتداولها ، مسببة لها تغيرات ، قد تكون تلك التغيرات مفيدة ، وقد تكون غير مرغوب فيها .

فمن النواحي المفيدة ، استخدام الميكروبات في إعداد وتجهيز بعض الأغذية ، كالمخبوزات وانتاج البروتين الميكروبي ، وفي صناعة الألبان المتخمرة والجبن ، وفي انتاج المخللات والمشروبات الكحولية (راجع الميكروبات والصناعة بالباب ١٢ ، فصل ٣ ، ص ص ٩٧٥ - ١٠٠٢) .

ومن النواحي الضارة ، تلويث الميكروبات للأغذية ، مما يسبب تحلل الغذاء وفساده ، كما تنتقل بعض الميكروبات المرضية عن طريق الأغذية ، فتسبب أمراضا للمستهلك ، أو تصيبه بتسممات غذائية .

حفظ الأغذية : Food preservation

يسعى الانسان لحفظ الغذاء ، بهدف منع نمو الميكروبات به ، وإيقاف حدوث تغيرات له تسبب فساده ، وذلك لاستخدام الغذاء في الوقت الذي يشح فيه ، أو لنقله من أماكن إنتاجه ، لمناطق بعيدة تحتاج إليه .

وتعتمد كل طرق الحفظ على واحد أو أكثر من الأسس التالية

١ - ابعاد أو منع التلوث الميكروبي Asepsis ، وذلك بالمحافظة على سلامة غلاف الغذاء الخارجي ، والتداول السليم للغذاء ، وغسيل الأغذية الطازجة جيداً قبل تناولها .

٢- تثبيط النمو الميكروبي Microbistatic action ، وذلك بحفظ الغذاء على درجات حرارة منخفضة (كما في المبردات والمجمدات) ، أو بتجفيف الغذاء (كما في الفواكه المجففة) ، أو باستخدام المواد الحافظة المضافة (مثل كلوريد الصوديوم في المخللات) ، أو المواد الحافظة المتكونة أثناء إعداد الغذاء (كحامض اللاكتيك المتكون في الألبان المتخمرة) .

٣- قتل الميكروبات Microbicidal action ، وذلك بحفظ الغذاء باستخدام درجات حرارة مرتفعة ، تؤدي الى قتل كل الميكروبات المرضية وأغلب الأنواع المفسدة .

ومن المعاملات الحرارية المستعملة في قتل الميكروبات ، البسترة (كما في حالة اللبن وعصائر الفواكه) ، والغليان (كما في حالة المربات والأغذية المنزلية) ، والتعليب باستعمال درجات حرارة أعلى من ١٠٠°م للأغذية منخفضة الحموضة المعبأة في أوعية محكمة القفل (كما في حالة الخضر واللحوم) .

الأغذية المتخمرة : Fermented foods

الأغذة المتخمرة ، هى مجموعة من المنتجات تستعمل كأغذية ، تنتج جزئيا ، أو كليأ ، بالتخمرات الميكروبية التى تتم نتيجة للنشاط الميكروبى . ومن أمثلة هذه الأغذيـــة المتخمـــرة ، المخللات ، والسيلاج ، وبعض أنواع السجق Sausages .

وتعتبر بكتريا حامض اللاكتيك ، هى المسئولة أساساً ، عن حدوث التخمر المرغـــوب فيه ، المطلوب لإنتاج كل نوع من أنواع هذه الأغذية المتخمرة . وهذه البكتريا ، تنتج حـــامض اللاكتيك ، الذى يساعد على حفظ هذه المنتجات ، إذ يثبط الحـــامض المتكـــون ، الميكروبـــات المسببة للفساد .

وتوجد الميكروبات ، المسببة لهذه التغيرات المطلوبة ، طبيعيـــاً علـــى المـــادة التـــى ستُخمَّر ، أو تضاف كبادىء Starter culture ، أثناء الإعداد .

والجدول [١٢ (١) - ١] ، يوضح أمثلة لهذه التخمرات .

جدول ١٢ (١) - ١ : بعض أمثلة للأغذية المتخمرة والميكروبات المسببة .

الغذاء	المادة المستعملة	الميكروبات المسئولة عن مراحل التخمر
كرنب مخلل Sauerkraut	شرائح الكرنب	فى المرحلة المبكرة من التخمر *Enterobacter cloacae, Erwinia herbicola* فى المرحلة المتوسطة *Leuconostoc mesenteroides* فى المرحلة النهائية *Lactobacillus plantarum*
مخللات Pickles	خيـــــار زيتون أخضر	فى المرحلة المبكرة *Leuc. mesenteroides, Streptococcus faecalis, Pediococcus cerevisiae* فى المرحلة المتوسطة *Lact. brevis , Lact. plantarum* فى المرحلة النهائية *Lact. plantarum*
سيلاج Silage (علف أخضر حيوانى)	نباتات خضراء	فى المرحلة المبكرة *Enterobacter, Coliforms* فى المرحلة المتوسطة *Leuconostoc, Streptococcus, Lactobacillus* فى المرحلة النهائية *Lact. brevis, Lact. plantarum*
سجق Sausage	لحوم أبقـــــار	*Pediococcus cerevisiae, Micrococcus* spp.

فساد الأغذية : Food spoilage

يحدث الفساد البيولوجي للغذاء ، بسبب نشاط انزيمات الغذاء أو بتأثير الميكروبات ، أو بسبب الأثنين معاً ، ويعتبر الفساد الميكروبى أهم أنواع الفساد ، ويليه الفساد الانزيمى ، وغالباً فإن المعاملات المستخدمة فى حفظ الأغذية من الفساد الميكروبى ، تُتلف أيضاً إنزيمات الغذاء .

وتتوقف طبيعة وسرعة فساد الغذاء ، علـى طبيعـة الغـذاء ، وصفاتـه الطبيعيـة والكيميائية ، وأنواع وأعداد الميكروبات الملوثة ، وطريقة حفظ الغذاء ، وظروف تخزينه .

والجداول التالية ، توضح بعض النماذج لأنواع الفساد بالأغذية ، والميكروبات المسـببة لذلـك الفساد .

جدول ١٢ (١) – ٢ : أمثلة لأنواع الفساد بالأغذية الخام (غير المعلبة) والميكروبات المسببة .

الغذاء	نوع الفساد	المسبب
خضروات طازجة	لزوجة ، تلون تعفـــن	إنزيمات الخضار *Erwinia , Aspergillus , Rhizopus*
فواكه طازجة	عفن طرى عفن أخضر عفن أسود	*Rhizopus* *Botrytis* *Aspergillus niger*
عصير الفاكهة	روائح كريهة تخمر كحولي تخمر خليكي	*Achromobacter , Lactobacillus, Leuconostoc* *Saccharomyces* *Acetobacter*
اللحوم الطازجة	حموضة تعفـــن فطرى وبقع ملونة	*Micrococcus, Pseudomonas, B. megatherium* *Alcaligenes, Clostridium, Proteus, Pseudomonas* *Aspergillus, Cladosporium, Penicillium, Rhizopus*
الدواجن	لزوجة ، روائح	*Alcaligenes, Pseudomonas*
الأسماك *	تعفن تلون	*Alcaligenes, Flavobacterium, Pseudomonas* *Micrococcus, Pseudomonas, Sarcina*
البيض	تعفن بدون لون عفـن أخضـر عفـن أسـود عفـن فطرى	*Alcaligenes, Achromobacter, Coliform* *Pseudomonas fluorescens* *Proteus* *Cladosporium, Penicillium*

• الأسماك أسرع فساداً من اللحوم ، وذلك
لسرعة تحللها الذاتى بواسطة إنزيماتها ،
ولأن حموضتها أقل من اللحوم ، فهى أكثر تعرضاً للبكتريا ،
كما أن زيوت الأسماك أسرع تزنخاً ، من دهن اللحوم .

جدول ١٢ (١) – ٣ : أمثلة لأنواع الفساد بالأغذية المجهزة (غير المعلبة) ، والميكروبات المسببة .

الغذاء	نوع الفساد	المسبب
الخبز	فطرى مع مناطق ملونة لزوجة	*Aspergillus niger, Penicillium* *Rhizopus nigricans,* *Bacillus subtilis*
الشربات والمربات	لزوجة خميرة أوزموفيلية فطرى	*Enterobacter aerogenes* *Zygosaccharomyces* *Aspergillus , Penicillium*
المخللات	طراوة سواد فجوات خميرة غشائية ، وتلون	*Bacillus polymyxa, Erwinia* *Desulfotomaculum* *Lactobacillus brevis,* Yeast *Rhodotorula*
السجق	إخضرار ولزوجة تسمم بوتشوليني	*Lactobacillus, Leuconostoc* *Clostridiium botulinum*

جدول ١٢ (١) – ٤ : أنواع الفساد بالأغذية المعلبة منخفضة ومتوسطة الحموضة (كالخضروات واللحوم) .

نوع الفساد والمسبب	مظهر الفساد	
	في العلبة	في الغذاء
بكتريا محبة للحرارة المرتفعة – فساد المسطح الحامضى Flat sour (وقد يطلق عليه الفساد الحامضى المستوى ، أو المستتر) *B. stearothermophilus*	لايحدث انتفاخ بالعلبة	مظهر الغذاء عادى ، مع زيادة شديدة فى حموضة الغذاء
– فساد غازى بدون تكون H_2S Swelling without H_2S *Cl. nigrificans*	تنتفخ العلبة تدريجياً ، وقد تنفجر	تكون حموضة ، وروائح ، وغازات
– كبريتى نتن (عفن) Sulfide stinker *Cl. nigrificans*	لايحدث انتفاخ بالعلبة ويتكون H_2S ، يمتص بالغذاء	إسوداد الغذاء ، وروائح تعفنية
بكتريا محبة للحرارة المتوسطة تعفن Putrefaction *Cl. sporogenes*	تنتفخ العلبة تدريجياً وقد تنفجر	غازات ، وروائح تعفنية

جدول ١٢ (١) - ٥ : أنواع الفساد بالأغذية المعلبة الحامضية (مثـــل العصـــائر والفواكـــه وصلصـــة الطماطم) .

نوع الفساد والمسبب	مظهر الفساد	
	فى العلبة	فى الغذاء
فساد المسطح الحامضى *B. thermoacidurans*[1]	لايحدث انتفاخ بالعلبة	تغير فى الحموضة ، مع روائح كريهة ، وطعم غير مقبول
تخمر بيوتريكى *Cl. butyricum*[2]	انتفاخ العلبة تدريجياً وقد تنفجر	تخمر ، غازات ، ورائحة حامض البيوتريك
بكتريا غير متجرثمة* غالباً منتجة لحامض اللاكتيك	انتفاخ العلبة تدريجياً وقد تنفجر	طعم حامضى ، غازات
خمائـــــــــر*	انتفاخ العلبة تدريجياً وقد تنفجر	تخمر ، غازات ، رائحة الخميرة
فطريــــــات*	لايحدث انتفاخ بالعلبة	نمو سطحى للفطر ، روائح غير مقبولة

* توجد هذه الميكروبات بالغذاء ، إذا كانت المعاملة الحرارية غير كافية .

B (1) : *Bacillus*

Cl (2) : *Clostridian*

التسمم الغذائى* : Food poisoning

التسمم الغذائى هو مرض فجائى ، ينتج من تناول غذاء يحتوى على كيميائيات سامة (كالزرنيخ والرصاص) ، أو مبيدات ، أو نباتات وحيوانات سامة (كبعض أنواع عيش الغراب وبعض المحاريات والأسماك) ، أو سموم ميكروبية .

ويمتاز التسمم الميكروبى بأنه يظهر فجأة ، بين مجموعة كبيرة من الأفراد ، تناولوا الغذاء السام ، مع حدوث إضطرابات غالباً ماتكون فى الجهاز الهضمى .

ولاتقتصر مسببات التسمم الميكروبى على البكتريا ، بل قد يحدث التسمم من فطريات أو طحالب أو بروتوزوا ، والسموم Toxins التى يكونها الميكروب ، هى نواتج ثانوية للأيض الغذائى ، وأغلبها عبارة عن بروتين أو عديد الببتيدات .

وهناك نوعين من السموم الميكروبية

١ – سموم خارجية Exotoxins

وهذه السموم تفرز خارج الميكروب ، ويتسبب التسمم عن وجود التوكسين نفسه فى الغذاء (وليس الميكروب) ، كما فى حالة التسمم البوتشولينى والتسمم العنقودى .

٢- سموم داخلية Endotoxins

وهذه السموم تتكون وتبقى بداخل الميكروب ، ويحدث التسمم نتيجة تعاطى الميكروب حياً ، أى حدوث عدوى ميكروبية Infection ، حيث يتكاثر الميكروب بأمعاء المصاب ، وبعد موت الميكروب وتحلل خلاياه ، تنطلق منه التوكسينات الداخلية ، محدثة التسمم ، وذلك كما فى حالة التسمم بالسالمونيلا .

وتعتمد طرق الوقاية عموماً من التسمم الغذائى الميكروبى ، على منع وصول الميكروبات إلى الغذاء ، أو إيقاف نموها إذا ماوصلت اليه .
ويبين الجدول [١٢ (١) – ٦] مقارنة بين أنواع بعض التسممات الغذائية البكتيرية الشائعة الحدوث .

الأمراض التى تنقلها الأغذية* : Food-borne diseases

تنتقل بعض الميكروبات الممرضة ، عن طريق الأغذية الصلبة والسائلة بما فى ذلك الماء ، فتسبب أمراضا للمستهلك ، ومن أمثلة هذه الأمراض : التيفود والكوليرا والدوسنتاريا .
كما ينتقل عن طريق الأغذية ، الفيروسات المسببة لبعض الاضطرابات المعوية ، والالتهاب الكبدى الوبائى ، وشلل الأطفال ، وبالاضافة الى ذلك ، فقد تنقل الأغذية بعض الطفيليات الحيوانية Food-borne animal parasites ، مثل البروتوزوا ، والديدان الكبدية والاسطوانية والشريطية .

---

* راجع الميكروبات وأمراض الانسان ، أمراض تنتقل عن طريق الأغذية والمياه ، الباب ١٣ ، جدولى ١٣ – ٢ و ٣ ، ص ص ١٠٣٩ – ١٠٤٦ .

وراجع توكسينات السيانوبكتريا ، ص ١١١٨ ومايليها .

جدول ١٢ (١) - ٦ : مقارنة بين التسممات الغذائية البكتيرية الشائعة .

التسمم	المسبب	فترة الحضانة (ساعة)	الأعـراض	مدة المرض (يوم)	نسبة الموت	الأغذية الممرضة
البوتشوليني Botulism	توكسين ، يفرزه *Cl. botulium*	١٢-٢٦ (٢٤)	صداع ، دوار ، صعوبة في البلع والنطق والنظر والتنفس ثم شلل في الجهاز التنفسي	٣-٨	أكثر من ٦٥%	الأغذية منخفضة الحموضة المعلبة ، والمعلبات المنزلية
العنقودي Staphylococcal	توكسين ، يفرزه *Staph. aureus*	١-٦ (٣)	اضطرابات معوية مثل مغص ، قيء ، إسهال	١-٣	منخفضة جداً	الفطائر المحشوة ، والجاتوهات ، ومنتجات الألبان ، والأغذية منخفضة الحموضة عموماً
البرفرنجي *Perfringens*	توكسين ، يفرزه *Cl. perfringens*	١٠-٢٤ (١٥)	اضطرابات معوية	١-٣	منخفضة	اللحوم والدواجن والأسماك غير جيدة الطبخ
السالمونيللي Salmonellosis	عدوى *Salmonella* spp.	٧-٣٠ (٢٤)	اضطرابات معوية مع ارتفاع في الحرارة	٢-٤	أقل من ١%	اللحوم والألبان

٤- الميكروبات والألبان Microbes and Dairy

محتوى اللبن من الميكروبات

يحتوى اللبن على جميع العناصر الغذائية اللازمة لنمو الكائن الحى ، لذلك فهو بيئة غذائية صالحة لنمو وتكاثر الميكروبات ، وبعد نزول اللبن من ضرع الحيوان ، يتعرض اللبن للتلوث من مصادر عديدة ، بكثير من الميكروبات ، من بكتريا وخمائر فطريات ، ويتوقف نوع وعدد الميكروبات الملوثة للبن ، على ظروف الحيوان وطريقة الحليب وجو الاسطبل ، والأدوات والأوانى المستعملة ، والحلابين ومتداولى اللبن ، وطرق معاملة اللبن وتخزينه عقب الحليب .

وأهم أنواع البكتريا المترممة الموجودة باللبن الحليب هى : بكتريا حامض اللاكتيك الكروية والعصوية ، وبكتريا مجموعة القولون ، والأنواع البكتيرية المحللة للدهون والبروتينات ، والكلوستريديوم .

بسترة اللبن : Pasteurization

من أهم العمليات التى يتعرض لها اللبن عقب حلبه هى عملية البسترة ، وتعتبر البسترة من طرق حفظ اللبن المناسبة ، وهى تتم على درجة حرارة أقل من درجة الغليان .

وبالبسترة يتم القضاء على ٩٠ - ٩٩% من البكتريا الحية الموجودة باللبن ، ويتضمن ذلك القضاء على أغلب الميكروبات المفسدة ، وكل الميكروبات المرضية التى من بينها ميكروب السل ، وهو من أشد الميكروبات المرضية غير المتجرثمة الموجودة باللبن مقاومة للحرارة ، حيث يموت بتعرضه لدرجة حرارة ٦١,١°م لمدة ١٠ دقائق .

وللبسترة طريقتان

١ - **البسترة البطيئة** ، وفيها يعامل اللبن على درجة ٦٢,٨°م* لمدة ٣٠ دقيقة .
٢ - **البسترة السريعة** ، وفيها يعامل اللبن على درجة ٧١,٧°م لمدة ١٥ ثانية .

ويتبقى بعد البسترة ، البكتريا المقاومة والمحبة للحرارة المرتفعة والبكتريا المتجرثمة ، ومن أمثلة البكتريا التى تبقى بعد عملية البسترة :

١ - أنواع كروية مثل *Micrococcus luteus, M. varians* .
٢ - أنواع عصوية مثل

Streptococcus cremoris, S. faecalis, S. thermophilus.
Lactobacillus bulgaricus, L. thermophilus
Microbacterium lacticum

٣- أنواع متجرثمة منها الباسلس والكلوستريديوم

---

* عدلت درجة حرارة معاملة البسترة البطيئة من ٦١,٧°م الى ٦٢,٨°م ، بعد مالوحظ أخيراً من أن الريكتسيا *Coxiella burnetii* المسببة لمرض Q-fever ، تنتقل عن طريق اللبن ، وأنها أكثر مقاومة للحرارة من بكتريا السل ، حيث تموت الريكتسيا عند درجة ٦١,٧°م لمدة ٣٠ دقيقة .

فساد اللبن

يرجع فساد اللبن البكتريولوجي ، إلى نمو البكتريا ونشاطها ، وتَجَمُّع نواتج عملية الأيض التي تقوم بها الميكروبات فى اللبن ، مما يسبب حدوث الفساد بمظاهره المختلفة .

ومن أهم أنواع الفساد التي يتعرض لها اللبن عقب حليبه ، هي تكون الحموضة ، نتيجة نشاط أنواع مختلفة من الميكروبات ، أهمها بكتريا حامض اللاكتيك ، مما يسبب تحول لاكتوز اللبن الى حامض لاكتيك ، وبذلك ترتفع حموضة اللبن (مقدرة كحامض لاكتيك) من حوالى ٠,١% عند حليبه حتى تصل الى حوالى ٠,٦% ، ويحدث تجبن حامضى Souring باللبن ، عند ق يد ٤,٦ - ٤,٨ .

وبتكاثر البكتريا المتحملة للحموضة من جنس *Lactobacillus* ، تزداد حموضة اللبن الى أن تصل الى ٢,٠% أو أكثر ، فتنشط الخمائر الغشائية والفطريات ، وتستهلك الأحماض المتكونة ، وبذلك تتهيأ الظروف لنشاط البكتريا المحللة للبروتين ، الهوائية (حيث يحدث تحلل بدون روائح كريهة) ، أو اللاهوائية (حيث يحدث تعفن) .

لاتحدث حموضة غالباً فى اللبن المبستر ، بسبب قتل أغلب الميكروبات المخمرة لسكر اللاكتوز المنتجة للحموضة ، ولكن يحدث باللبن المبستر ، تجبن حلو (إنزيمى) Sweet curdling ، ثم هضم للخثرة المتكونة Peptonization ، وتعفن بروتينى Putrefaction بواسطة البكتريا المحللة للبروتين المتبقية بعد عملية البسترة .

يحدث التجبن الحلو (الانزيمى) بسبب انزيمات شبيهة بإنزيم الرينين ، تفرزها بعض أنواع البكتريا ، فيرسب الكازين دون تحلل سكر اللاكتوز ، وعادة مايتبع التجبن الحلو ، تحلل للخثرة المتكونة Peptonization ، مع تراكم كميات من النواتج النتروجينية الذائبة ، التى تسبب طعماً مرا فى اللبن .

ومن الميكروبات المسئولة عن حدوث التجبن الحلو وهضم الخثرة *Bacillus, Pseudomonas, Streptococcus liquifaciens* .

ويوضح الجدول [١٢ (١) - ٧] الميكروبات المسببة لحموضة اللبن ، وأهم نواتج التخمر .

كما يوضح الجدول [١٢ (١) - ٨] التغيرات التى تحدث فى لون وطعم اللبن بسبب الميكروبات

وكذلك يبين الجدول [١٢ (١) - ٩] أهم الميكروبات المسببة لتكون الغازات وتحلل البروتين والدهون فى اللبن .

جدول ١٢ (١) - ٧ : حموضة اللبن : الميكروبات المسببة وأهم نواتج التخمر

أهم الميكروبات المسببة	مصدر الميكروبات	مادة التفاعل والنواتج النهائية
Streptococcus, e.g. *S. lactis, S. cremoris* بكتريا متجانسة التخمر	أوعية اللبن والأعلاف	تخمر سكر اللاكتوز ، وتكون حامض لاكتيك
Micrococcus, e.g. *M. luteus, M. varians* بكتريا تتحمل حرارة البسترة	الغدد الثديية بالحيوان ، وأوعية اللبن	تخمر اللاكتوز لأحماض عضوية والبكتريا المسببة ، محللة أيضا للبروتين
Coliforms, e.g. *E. coli, Enterobacter aerogenes* بكتريا خليطة التخمر	الأوعية ، الأعلاف ، التربة ، الأسمدة العضوية ، المياه الملوثة	تخمر اللاكتوز الى حامض لاكتيك، ونواتج أخرى
Microbacterium lacticum تتحمل حرارة ٨٠-٨٥°م لمدة ١٠ دقائق	الأوعية ، الأسمدة العضوية	تخمر اللاكتوز تخمرا مختلطا Mixed fermentation
Lactobacillus منها متجانس التخمر مثل *L. casei, L. plantarum* ومنها خليط التخمر مثل *L. brevis, L. fermenti*	الأعلاف ، الأسمدة العضوية	تخمر اللاكتوز إلى حامض لاكتيك ونواتج أخرى

جدول ١٢ (١) - ٨ : تغيرات اللون والطعم فى اللبن .

تغيرات اللون		تغيرات الطعم	
اللون	أهم المسببات	الطعم	أهم المسببات
أزرق	*Pseudomonas syncyanea*	Bitter المر	*B. subtilis, Micrococcus Pseudomonas, Strepcococcus liquefaciens, Torula*
أزرق مخضر	*P. fluorescens*	Stale الزفر Dirty القذر	*Coliforms*
أصفر	*Micrococcus flavum* *Sarcina lutea*	الزنخ Rancid	*Achromobacter, Pseudomonas, Geotrichum*
أحمر	*Achromobacter prodigiosum* *Sarcina rosea* *Serratic marcescens* *Torula rosea*	الخمائرى	*Candida, Torula*

جدول ١٢ (١) - ٩ : تكون الغازات وتحلل البروتين والدهون فى اللبن .

نوع التغير	أهم الميكروبات المسببة	مصدر الميكروبات	مادة التفاعل والنواتج النهائية
تكون غازات Gas production	Coliforms *Cl. butyricum* *Cl. perfringens* *Candida* *Torula cremoris*	الأوعية ، الأعلاف، التربة ، الماء ، الروث ، الأسمدة العضوية	تحلل سكر اللاكتوز ، وتكون غازات : CO_2, H_2
اللبن اللزج (الخيطى) Roby or stringy milk	*Alcaligenes viscolactis* , *Enterobacter aerogenes* **S. cremoris*	الأعلاف ، التربة ، الماء	تمثيل السكريات ، والببتيدات ، وتكون مواد كبسولية لزجة
تحلل البروتينات هوائى Proteolysis	*Bacillus*, e.g. *B. subtilis* *B. cereus* *Pseudomonas* *Proteus* *S. liquefaciens* *Geotrichum* *Penicillium*	الأوعية ، التربة ، الماء	تحلل الكازين هوائى الى ببتيدات ، وأحماض أمينية، وقد يسبق ذلك تجبن إنزيمى قد يحدث تلون ، وروائح وطعم غير مقبول
تحلل البروتينات لاهوائى ، تعفن Putrefaction	*Clostridium*, e.g. *Cl. sporogenes*	الأوعية ، التربة ، الماء	تحلل الكازين لاهوائى ، إلى أمينات ، وإندول ، ومركبتان ، وأمونيا ، وتكون روائح غير مقبولة
تحلل الدهون Lipolysis	*Achromobacter* *Pseudomonas fluorescens* *Candida* *Geotrichum* *Penicillium*	الأوعية ، التربة ، الماء	تحلل دهن اللبن الى جلسرول وأحماض دهنية وحدوث تزنخ

Streptococcus : S *

الأمراض التى تنتقل عن طريق اللبن : Milk-borne diseases

المصدرين الهامين لتلوث اللبن بالميكروبات المرضية ، هما : الحيـــوان [جـدول ١٢ (١) - ١٠] ، والانسان [جدول ١٢ (١) - ١١] سواء أكان مريضا ، أو حاملاً للميكروب .

وأفضل طرق الوقاية ، هى عزل مصدر الإصابة ، وبسترة اللبن .

جدول ١٢ (١) - ١٠ : أمراض تنتقل من الحيوان المصاب ، الى اللبـــن ، الـــى الانســـان أو الحيوان .

المرض	المسبب	مظهر الاصابة
إلتهاب ضرع الحيوان Mastitis	*Streptococcus*, e.g. *S. pyogenes* *Staphylococcus aureus*	حمى قرمزية بالإنسان وأمراض بالجهاز التنفسى تسمم غذائى وإضطرابات معوية
الســـل	*Mycobacterium bovis*	سل فى الإنسان ، والحيوان ، وفى العديد من الثدييات
البروسيلا Brucellosis	*Brucella*, e.g. *B. abortus* *B. suis* *B. melitensis*	تسبب فى الحيوان الإجهاض المعدى وتسبب فى الانسان الحمى المتقطعة (حمى مالطا)
حمى Q Query (Q) fever	*Coxiella burnetii*	حمى والتهابات رئوية بالانسان
التسمم بالسالمونيلا Salmonellosis	*Salmonella*, e.g. *S. enteritidis* *S. typhimurium*	يسبب حمى بالحيوان ، وتسمم غذائى بالإنسان

جدول ١٢ (١) - ١١ : أمراض تنتقل من الإنسان (المصاب أو الحامل للميكروب) ، الى اللبن ، الى الانسان .

المرض	المسبب	مظهر الاصابة
أمراض معوية التيفود الباراتيفود	*Salmonella typhi* *S. paratyphi*	حمى التيفود حمى الباراتيفود
الدوسنتاريا باسيلية أميبية	*Shigella* spp. *Entamoeba histolytica*	الدوسنتاريا الدوسنتاريا
الكوليرا	*Vibrio cholerae*	الكوليرا
أمراض بالجهاز التنفسى السل	*Mycobacterium tuberculosis*	سل الإنسان
الدفتريا	*Corynebacterium diphtheriae*	الدفتريا (الخناق)
حمى قرمزية ، والتهاب الزور المعدى	سلالات من : *Streptococcus pyogenes*	طفح أحمر على الجسم ، التهابات بالزور والجهاز التنفسى

الفيروسات التى تنتقل عن طريق اللبن ومنتجاته

ينتقل عن طريق اللبن ومنتجاته : فيروسات الجهاز التنفسى Adinoviruses ، وفيروسات الالتهاب الكبدى Hepatitis ، والفيروسات المعوية Enteroviruses والتى منها فيروس شلل الأطفال .

كما ينتقل عن طريق اللبن فيروسات الحمى القلاعية .

الألبان المتخمرة : Fermented milks *

تنتج الألبان المتخمرة ، بتأثير البادئات اللبنية ، المنتجة للحموضة والنكهة .

فتقـوم بكتريـا البـادىء المنتجـة للحموضـة * ، مـن أجنـاس *Streptococcus,* و *Lactobacillus* ، بإنتاج حامض اللاكتيك ، وتجبين اللبن .

أما البكتريا المنتجة للنكهة ، مثل تلك التابعة لجنس *Leuconostoc* ، فإنها تنتج مـوادا طيارة ومتعادلة ، تكسب المنتج الطعم ، والنكهة المطلوبة .

وترجع القيمة الغذائية للألبان المتخمرة ، إلى إحتوائها علـى جميـع مكونـات اللبـن الطبيعية ، بإستثناء سكر اللاكتوز ، الذى تحول الى حامض لاكتيك ، وهذا الحامض المتكـون ، هو عامل الحفظ الرئيسى بهذه الألبان ، فبوجوده ، يقف نمـو البكتريـا التعفنيـة ، والبكتريـا المرضية .

والألبان المتخمرة ذات أنواع عديدة [جدول ١٢ (١) – ١٢] ، تختلف بإختلاف نـوع اللبن المستخدم (أبقار ، أغنام ، ماعز ، جمال) ، والبادىء المستعمل ، وطريقة الصناعة .

---

* راجع الميكروبات والصناعة – بكتريا حامض اللاكتيك والمنتجات اللبنية ، بالباب ١٢ ، فصل ٣ ، ص ص ٩٩٤ – ٩٩٦ .

جدول ١٢ (١) - ١٢ : بعض أنواع الألبان المتخمرة .

المنتـــج	الميكروبات المسئولة عن التخمير ونوع الخثرة المتكونة	عملية التخمير وحموضة المنتج النهائى
اللبن الرايب	[1]*S. lactis, Leuconostoc* sp. الخثرة المتكونة عديمة القوام ، أى سائلة	يتم التجبن بترك اللبن فى شوالى على حرارة الغرفة لمدة ١-٣ يوم وبعد نزع القشدة ، نحصل على اللبن الرايب ذو حموضة عالية حوالى ١,٠%
الزبادى واليوجهورت Yoghurt	*S. thermophilus,* [2]*L. bulgaricus* وقد توجد أنواع أخرى من البكتريا والخمائر الخثرة المتكونة متوسطة التماسك ، تشبه الكاستارد	يحضن اللبن الملقح بالبادىء ، على درجة ٣٧-٤٥°م لعـدة ساعـات (٣ ساعة فى المتوسط) ولليوجهورت الناتج أسماء متعددة، حسب البلد المنتج ذو حموضة متوسطة ، وله طعم ونكهة
لبن الأسيدوفلس Acidophilus milk	*L. acidophilus* الخثرة المتكونة ذات قوام متماسك	يسخن اللبن الى ٩٠°م لمدة ساعة لقتـل أغلب الميكروبـات ، لأن ميكروبـات البـادىء حساسـة للميكروبات الأخرى ثم يبـرد اللبن ، ويلقح بالبادىء بنسبة ٢% ، ويحضن لمدة ٣-٤ ساعة على ٣٧°م ذو حموضة متوسطة ، حوالى ٠,٧% ، وخالى من الطعم والنكهة
اللبن البلغارى Bulgarian milk	*L. bulgaricus* الخثرة المتكونة عديمة القوام ، لزجة	يحضن اللبن الملقح بالبادىء على درجة ٣٧°م لعدة ساعات ذو حموضة عالية ، وخالى من الطعم والنكهة

(1) *S: Streptococcus* (2) *L: Lactobacillus*

تابع جدول ١٢ (١) - ١٢ :

المنتــج	الميكروبات المسئولة عن التخمير ونوع الخثرة المتكونة	عملية التخمير وحموضة المنتج النهائى
اللبنة المتخمرة Cultured butter-milk	*Streptococcus lactis,* *S. cremoris,* *Leuconostoc*	يسخن اللبن الى ٨٥°م لمدة ٣٠ دقيقة ، ثم يبرد ويلقح بالبادىء بنسبة ٢% ويحضن على ٢١°م لمدة ٨ ساعات ذو حموضة متوسطة ، حوالى ٠,٨% ، وله طعم ونكهة
الكفيــــر Kefir	*S. lactis, L. bulgaricus,*[1] Lactose-fermenting, yeast, e.g. *Kluyveromyces fragilis,* *Candida kefir* تتجمع ميكروبات البادىء باللبن المتخمــر فــى شــكل حبيبات بيضـــاء اللون ، تسمى حبوب الكفير Kefir grains ، ويمكن فصلهـا وإعــادة إستعمالهـا كبادىء الخثرة سائلة ، عديمة القوام	يصنع من لبن الأبقار ، والأغنام ، والماعز ، يتم التخمر على ٢٢°م لمدة ١٢ ساعة فى قربة من جلد الماعز وتصفى الخثرة المتكونة ، لفصل حبوب الكفير ، واستعمالها كبادىء يحتوى الناتج على ١% حامض ، و ١% كحول ، وكمية وفيرة من غاز CO_2 ، تسبب رغاوى ، وله طعم ونكهة
الكوميــس Kumiss	مثل الكفيــر	يصنـــع من لبـــن الفرس ، ويتم التخمر على ٢٨°م لعدة ساعات الناتج يحتوى على حامض الأستيك وكحول و CO_2 ، وله طعم ونكهة

[1] S : *Streptococcus* .

L : *Lactobacillus*

﴿الباب الثانى عشر - الفصل الثانى﴾
الميكروبات وتحلل المواد الطبيعية

المحتويـــات

المحتويات

الموضوع	الصفحة

«الباب الثانى عشر - الفصل الثانى»

الميكروبات وتحلل المواد الطبيعية

Microbes and Degradation of Natural Substances

مقدمـــة

تقوم بدائيات النواة ، و حقيقيات النواة المجهرية من الفطريات والبروتوزوا ، إضافـة إلى مجموعة من الحيوانات اللافقارية الصغيرة كالديدان والحشرات ، تقـوم بمهاجمـة المـواد الطبيعية ، وتحليلها تحليلاً كلياً أو جزئياً ، الى نواتج أبسط ، ونظـرا لأن الكائنـات المجهريـة تختلف فى إحتياجاتها الغذائية وفى صفاتها الفسيولوجية بإختلاف أنواعها ، فإننا نجد أن كل نـوع من المجهريات قادر على تحليل مركب معين ، أو مجموعة معينة من المركبـات ، وتسـتخدم المجهريات نواتج التحلل كمصدر للطاقة ، و/أو كمصدر للكربون .

وتتحلل أغلب المواد الطبيعية بواسطة المجهريات تحت الظروف الهوائية ، وإن كـان بعضاً من هذه المواد يتحلل تحت الظروف اللاهوائية ، ويستفيد من نواتج تحلل المواد الطبيعيـة، الكائنات التى قامت بتحليلها ، أو الكائنات الأخرى المجاورة ، حسب أنواع التعـايش المتواجـدة بين هذه الكائنات وبعضها .

والمواد الطبيعية متعددة ، وتختلف فى مصدرها وفى نوعيتها وفى تركيبها الكيميـائى ، ولذلـك فإنها تختلف أيضاً فى نواتج تحللها ، وفى أنواع المجهريات التى تسود فى تحليلها .

من المواد الطبيعية التى تقوم بتحليلها الكائنات المجهرية ، مايلى

السليلوز : Cellulose

مكونات السليلوز والانزيمات المحلله له

يعتبر السليلوز المادة الأساسية المكونة للنبات ، فهو يشــكل أعلــى كميــة موجــودة بالمخلفات النباتية مقارنة بالمكونات النباتية الأخرى ، وفى المتوســـط فــإن نسـبة الســليولوز الموجودة بالمخلفات النباتية فى التربة الزراعية ، تصل لحوالى ٤٥% ، وتصل هذه النسبة الـــى حوال ٩٠% فى الأراضى المنزرعة قطنا ، ولذلك فإن للسليلوز أهمية كبيــرة ، تلى مباشــرة أهمية ثانى أكسيد الكربون ، فى دورة الكربون فى الطبيعة .

ويتكون السليلوز من وحدات β-D-glucopyranose ، موجودة فى سلاســل مرتبطــة بروابط جليكوزيدية من نوع بيتا - ١ ، ٤- ، كما هو موضح بالشكل التالى .

جلوكوز

glucose

تركيب بيتا - ١ ، ٤- جليكوزايد

تركيب وحدة بيتا - ١ ، ٤ - جليكوزايد

وتصل عدد وحدات الجلوكوز فى جزىء السليولوز الى حوالى ١٤ ألف وحــــدة فـــى خلايا النبات ، و ٣٥٠٠ وحدة فى خلايا بكتريا *Acetobacter xylinum* ، بينمـــا تصــل عــدد وحدات الجلوكوز فى الطحلب الأخضر *Valonia* إلى حوالى ٢٥ ألف وحدة .

وإذا نظرنا الى التركيب البنائى للسليلوز ، نجد أن السكر الثنائى سلوبيوز (٢ وحدة من الجلوكوز برابطة بيتا -١ ، ٤-) ، يمثل الوحدة الأساسية فى تركيــب الســليلوز ، أكــثر مــن الجلوكوز ، ويحدث تبلور جزئى للسليلوز فى مناطق غير منتظمة الشكل Amorphous areas ، وبالتالى تنتج أشكالاً متعددة من السليلوز ، فمنها سليلوز ١ ، Cellulose I (السليولوز الطبيعــى) وسليلوز II ، Cellulose II (القطن المغزول Mercerised cotton) ، ويمكن تميز هذه الأشكال عن طريق ترتيب سلاسل الجلوكوز الموجودة فى التركيب الشبكى البلورى Crystal lattice .

وترجع قوة الشد الميكانيكية للسليلوز وعدم قابليته للذوبان فــى المــاء ، إلــى وجــود روابــط ايدروجينية H-bridges داخل وخارج الجزىء ، تعمل على ربط وتثبيت السلاســـل الفرديــة ، وبالتالـــى تتكـــون شبكة ثنائية الأبعاد من الروابــط الايدروجينية ، كما يعزى الإلتصاق القوى

Strong cohesion مابين مستويات الشبكة ذات السلاسل الفردية ، الى قـــوى فـــان درفـــالس* Van der Waals forces كما هو الحال فى سليولوز I . بينما يتكون بُعد آخـــر مـــن روابـــط الإيدروجين فى سليلوز II ، وتتكون بذلك شبكة ثلاثية الأبعاد 3-dimensional network .

ويتحلل السليلوز بفعل ثلاثة أنواع على الأقل من الانزيمات

١ - Endo-β-1,4-glucanases ، وتعمل هذه المجموعة من الانزيمات على مهاجمة الروابـــط التى من نوع β-1,4 ، الموجودة فى مركز الجزىء للسلاسل الكبيرة ، وبالتالى تنتج سلاسل أصغر ، بها نهايات حرة من الجلوكوز .

٢- Exo-β-1,4-glucanases ، وتعمل هذه المجموعة من الانزيمات على إزالـــة الســـكريات الثنائية (سلوبيوز) من نهايات سلاسل السليلوز .

٣- β-l,4-glucosidases ، وتقوم هذه المجموعة من الانزيمات بالتحليل المـــائى للســـلوبيوز مكونة جلوكوز .

ويمكن توضيح مسار التحلل بالمعادلات الخطية التالية

1. Cellulose $\xrightarrow{\text{Endo-}\beta\text{-1.4-glucanase}}$ Smaller chains of cellulose

2. Smaller chains of cellulose $\xrightarrow{\text{Exo-}\beta\text{-1,4-glucanase}}$ Cellobiose + Oligosaccharides

3. Cellobiose $\xrightarrow{\beta\text{-1,4-glucosidase}}$ Glucose

تنظيم تخليق السليلوز : The regulation of cellulose synthesis

تتم عملية تنظيم تخليق السليلوز** عن طريق الكبح بواسطة نواتج الـــهدم Catabolic repression ، أو من خلال حث مادة التفاعل Substrate induction بواسطة السلوبيوز ، بينمـــا تتكون كميات ضئيلة من السليلوز بطريقة بنائية Constitutively .

يختلف تركيز السلوبيوز Cellobiose ، ذو التأثير الكبحـــى Repressing أو الحثـــى Inducing ، بإختلاف الكائنات الحية الدقيقة ، وبوجه عام تعمل التركـــيزات المنخفضـــة مـــن السلوبيوز كمادة للحث ، بينما تعمل التركيزات العالية من السلوبيوز على الكبح . هذا بالإضافـــة الى أن السلوبيوز يعمل أيضا كمثبط بالتنافس فى إنتاج الانزيمات .

والسليلوز الغير قابل للذوبان فى الماء ليس له تأثير مباشر على تخليـــق الانزيمـــات ، ولكنه يؤثر بطريقة غير مباشرة ، وذلك من خـــلال الســـلوبيوز النـــاتج مـــن التحلـــل المـــائى للسليلوز .

---

* قوى فان درفالس Van der Waals forces
قوى جذب ضعيفة نسبياً (أضعف من قوة الربط الكيميائية) ، توجد بين الذرات والجزيئات ، وهى تنشأ من التفاعل بين المواد ثنائية الأقطاب . وينسب اسم هذه القوى إلى مكتشفها ، عالم الكيمياء الأسكتلندى ، فان درفالس .

** راجع تنظيم الأيض الغذائى ، بالباب التاسع ، الفصل الثانى .

تحليل السليلوز تحت الظروف الهوائية : Degradation under aerobic conditions

يتم تحليل السليلوز فى التربة التى تتميز بدرجة عالية من التهوية ، بواسطة الميكروبات الهوائية (حقيقيات النواه ، الفطريات ، وبدائيات النواة ، البكتريا) ، بينما يتم التحلل تحت الظروف اللاهوائية ، بواسطة البكتريا والقليل من الفطريات اللاهوائية والبروتوزوا ، كما هو مبين فى جدول [١٢ (٢) - ١] .

جدول ١٢ (٢) - ١ : الكائنات الحية الدقيقة المحللة للسليلوز .

بدائية النواه (بكتريا)		حقيقية النواه (فطريات وبروتوزوا)	
Archangium	a	*Aspergillus fumigatus*	a
Cellulomonas	a	*Aspergillus nidulans*	a
Cellvibrio flavescens	a	*Botrytis cinerea*	a
Cytophaga	a	*Chaetomium globosum*	a
Micromonospora	a	*Fusarium,*	a
Polyangium	a	*Myrotheciuim verrucaria*	a
Pseudomonas fluorescens var. *cellulosa*	a	*Rhizoctonia solani*	a
Sorangium	a	*Trichoderma viride*	a
Sporangium	a	*Trichoderma reesei*	a
Sporocytophage	a	*Diplodinium*	b
Streptomycetes, several spp.	a	*Neocallimastix frontalis*	b
Bacteroides succinogenes	b	*Entodinium*	b
Butyrivibrio fibrisolvens	b		
Clostridium cellobioparum	b		
Clostridium thermocellum	b		
Eubacterium cellulosolvens	b		
Ruminococcus albus.	b		
R. flavefaciens	b		

a - هوائى

b - لاهوائى

وتلعب الفطريات بمقارنتها بالبكتريا ، دوراً هاماً فى تحليل السليلوز المرتبط بـــاللجنين (الأخشاب) تحت الظروف الهوائية ، وخاصة فى الأراضـــى الحامضيـــة. ومـــن أهـــم أنـــواع الفطريات المحللة للسليلوز ، تلك التابعة لأجناس *Chaetomium & Fusarium* .

ومن الفطريات المعروفة بقدرتها على تحليل السليلوز

Aspergillus fumigatus, A. nidulans, Botrytis cinerea, Rhizoctonia solani, Chaetomium globosum, Myrothecium verrucaria, Trichoderma viride

وتستخدم الثلاثة فطريات الأخيرة (التى تحتها خط) ، كدلالة علـــى النشـــاط الانزيمـــى لتحليـــل السليلوز ، ويمكن الحصول على انزيمات السليوليز فى راشح البيئة الغذائية المســـتخدمة لنمـــو الفطر ، حيث أن هذه الانزيمات تفرز خارج الميسليوم الفطرى .

وتعتبر *Sporocytophaga & Cytophage* ، من أهم أنواع البكتريا الهوائية المحللـــة للسليلوز ، وتقوم خلايا البكتريا بالارتباط بالمحاور الطولية لألياف السليلوز المتوازيـــة ، ويتـــم التحليل المائى عندما يكون الارتباط وثيق ، وفى الحال يحدث إمتصاص لنواتج التحلل .

وبالإضافة الى السيتوفاجا ، فإن بعض أجناس المكسوبكتريا المنتجة لأجسام ثمريـــة ، مثل *Archangium, Polyangium & Sorangium* ، وكذلك بعض الأكتينومايســـيتات مثـــل *Micromonospora chalcea , Streptomyces cellulosae* ، تتميز بقدرتها على النمـــو علـــى السليلوز .

تحليل السليلوز تحت الظروف اللاهوائية : Degradation under anaerobic conditions

يتم تحليل السليلوز تحت الظروف اللاهوائية ، عن طريق البكتريـــا الحقيقيـــة المحبـــة للحرارة المتوسطة وكذلك المحبة للحـــرارة المرتفعـــة ، مثـــل *Clostridium thermocellum* وبالإضافة الى ذلك ، فإن أنواعاً قليلة من الفطريات والبروتوزوا قادرة على تحليـــل الســـليلوز لاهوائى .

وتبدأ عملية تحلل السليلوز بإفراز البكتريا لمادة صفراء تشبه الكاروتينويدات ، والتـــى تزيد من درجة تآلف مادة التفاعل (السليولوز) والانزيمات المحللة ، ويعتبر تلون المادة باللون الأصفر دلالة جيدة على بدء تحليل السليلوز .

وفى حالة بكتريا *Cl. thermocellum* فقد لوحظ أن مجموعة الانزيمات المحللة للسليلوز ، توجد فى تركيبات تسمى Cellulosomes ، والسليلوسومات جسيمات دقيقة وزنها الجزيئـــى حوالـــى ٢,١ مليون دالتون ، توجد بالأغشية الخارجية لبعض أنواع البكتريـــا المحللـــة للســـليلوز مثـــل *Cl. thermocellum* ، وتقوم هذه السليلوسومات بربط جزىء السليلوز بسطح الخلية البكتيريـــة ، ثم تحليله بما تحتويه السليلوسومات من إنزيمات .

ومن نواتج تحلل السليلوز لاهوائى : الإيثانول ، الأسيتات ، اللاكتـــات ، الفورمـــات ، الايدروجين ، ثانى أكسيد الكربون . وتتـــم عمليـــة تخمـــر مشـــابهة بواســـطة *Clostridium cellobioparum* المحبة للحرارة المتوسطة ، كما تقوم العصويات الطويلـــة المذبيـــة لأليـــاف السليلوز والتابعة لجنس *Bacillus* مثل *B. cellulose-dissolvens* ، بالأرتباط الوثيـــق بأليـــاف السليلوز بطريقة مشابهة لما تقوم به الـــ *Cytophaga* ، وتحلل أليـــاف الســـليلوز دون إفـــراز السليوليز Cellulase خارج الخلايا ، فى الوسط .

تحلل السليلوز ميكروبياً فى كرش الحيوانات المجترة

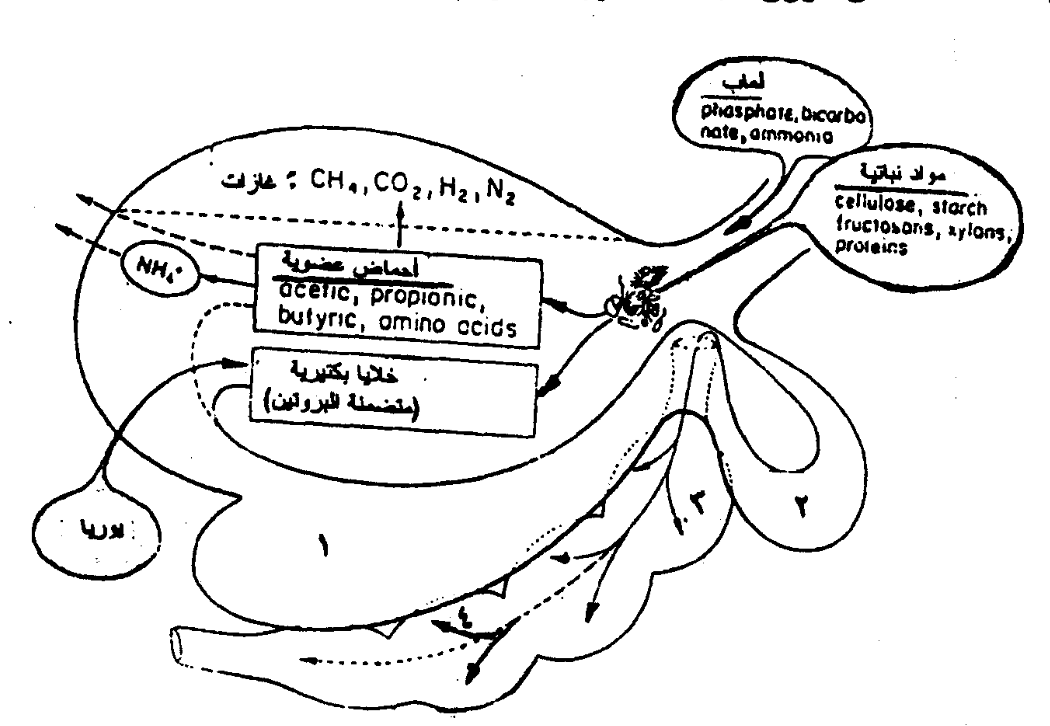
Microbial conversion of cellulose in the rumen

تتم عملية تحلل السليلوز فى معدة الحيوانات المجترة بواسطة البكتريا اللاهوائية والفطريات والبروتوزوا ، ويعتبر القش والحشائش والعلف مصدراً رئيسيا للكربوهيدرات ، حيث تحتوى الحشائش المجففة على حوالى ٥٠% فركتوز وزايلان ، بينما توجد بقية الكربوهيدرات على صورة سليلوز .

ويوضح الشكل [١٢ (٢) - ١] تحلل السليلوز فى كرش الحيوانات المجترة ، حيث تعتبر المعدة الأولى (الكرش) والثانية (الشبكية) ، غرفة تخمير كبيرة يصل حجمها لحوالى ١٠٠ - ٢٥٠ لتر ، وهى مهيئة بظروف مثلى لنمو العديد من الكائنات الحية الدقيقة ، فدرجة الحرارة بها تتراوح مابين ٣٧-٣٩°م ، ودرجة ق يد بين ٥,٨ - ٧,٣ (منظم بمحلول من الكربونات والفوسفات) ، ومحلول لعاب حوالى ١٠٠ - ٢٠٠ لتر/يوم .

وتحتوى العليقة على قطع صغيرة من السليلوز ، ويتم الخلط الميكانيكى لمكونات العليقة عن طريق حركة المعدة الأولى والتى تشبه فى عملها ، عمل المزارع الميكروبية النصف مستمرة .

وتسود البكتريا والبروتوزوا بالمجهريات التى توجد فى المعدة الأولى ، حيث يحتوى كل ١ مل من محلول الكرش ، على ١٠° بروتوزوا من الهدبيات Ciliates ، التابعة لأجناس *Entodinium & Diplodinium* ، وهى بروتوزوا متخصصة ، ونادراً ماتوجد خارج الكرش ، وتمثل حوالى ٦-١٠% من وزن محتويات الكرش .
بينما يصل عدد البكتريا اللاهوائية إجباراً لحوالى ١٠^١١/مل من محلول الكرش ، وتمثل حوالى من ٥ - ١٠% من الوزن الجاف لمحتويات الكرش .



شكل ١٢ (٢) - ١ : التحولات الميكروبية فى كرش المجترات

١- Rumen الكرش
٢- Omentum الشبكية
٣- Omasum الورقية (أم التلافيف)
٤- Abomasum المنفحة

وللبكتريا دور هام فى تحليل الكربوهيدات المعقدة التى توجد فى العليقة ، وتحويلها الى مركبات بسيطة مثل الأحماض الدهنية والكحولات ، وتبعاً لقياسات الميزان الكربونى Carbon balance ، فإن ٩٠% من كمية السليلوز الموجود فى العليقة ، تتحول إلى كميات كبيرة من الأحماض (مثل الأسيتات) والتى تمثل الكم الأكبر من النواتج (من ٥٠-٧٠%) ، يليها البروبيونات ، والبيوترات ، ثم قليل من الفاليرات Valerates والفورمات Formates ، هذا بالاضافة الى تكون أكثر من ٩٠٠ لتر من الغازات يوميا فى صورة : CO_2 ٦٥% ، ميثان ٢٧% ، نتروجين ٧% ، ايدروجين ٠,١٨% ، وكميات قليلة من كبريتيد الايدروجين .

من البكتريا الكروية السالبة لصبغة لجرام ، والتى لها القدرة على تحليل السليلوز *R. flavefaciens* و *Ruminococcus albus* .

ومن العصويات الغير متحركة ، السالبة لصبغة جرام والتى تكون الأسيتات والسكسينات من تحليل السليلوز *Clostridium cellobioparum* و *Butyrivibrio fibrisolvens* .

ويرجع غياب اللاكتات فى الكرش الى وجود بكتريا *Veillonella alcalescens (Micrococcus lactilyticus)* ، التى تخمر اللاكتات وتنتج أسيتات وبروبيونات وثانى أكسيد كربون .

ويتكون الميثان من الأحماض الدهنية والايدروجين الجزينى و CO_2 ، ويعزى انتاج H_2S فى الكرش الى إختزال الكبريتات بواسطة *Desulfotomaculum ruminis* ، كما تقوم بكتريا *Selenomonas ruminantium* بتخمير الجلوكوز ، وانتاج اللاكتات ، والأسيتات ، والبروبيونات .

ومن الفطريات الكتريدية * التى توجد فى الكرش ، فطر *Neocallimastix frontalis*، الذى يحلل السليلوز مكونا جلوكوز ، وهذا يتحول بدوره الى أسيتات ، فورمات ، ايثانول ، لاكتات ، CO_2 , H_2 .

وتلعب البكتريا الموجودة فى المعدة الأولى (الكرش) ، دوراً هاماً فى إمداد الحيوانات المجترة بالغذاء ، وذلك بوسيلتين .

أولاً عن طريق الإمداد بالأحماض الناتجة من عملية هدم الكربوهيدرات المعقدة واعادة امتصاصها فى المعدة الأولى .

وثانياً عن طريق تأثير إفرازات القناة الهضمية للحيوان على الخلايا الميكروبية الموجودة فى الأمعاء وتحليلها (بانزيم Lysozyme) ، وإعادة إمتصاصها ، وبالتالى تعتبر كمصدر بروتينى لغذاء الحيوان .

* الفطريات الكتريدية Chitridiomycetes ، فطريات دنيئة سوطية تتبع طائفة الفطريات الطحلبية Phycomycetes .

الزيلان : Xylan

الزايلان من أكثر الكربوهيدرات إنتشارا بعد السليلوز ، ويحتوى القش ولحاء الأشجار على حوالى ٣٠% زايلان ، والأخشاب الصنوبرية علــى ٧-١٢% زايــلان ، بينمــا تحتــوى أخشاب الأشجار المتساقطة الأوراق على ٢٠-٢٥% زايلان .

والزايلان هو أحد أنواع الهميسليلوز ، وإن كان ليس له علاقة بتركيب السليلوز ، وهو يذوب فى الماء أو الوسط القلوى . ويتكون الهميسليلوز من بنتوزات (زيلوز ، أرابينوز) أو مــن هكسوزات (جلوكوز ، مانوز ، جــالاكتوز) ، هــذا بالإضافــة الــى أحمــاض اليورونيــك ، Uronic acid ، مثل Glucuronic & Galacturonic acid كما هو موضح بالشــكل التــالى ، ويعتبر الزايلان مخزنا لإمداد النبات بالمواد الغذائية ، كما يوجد الزايلان فى العديد من البكتريــا والفطريات .

CH_2OH CH_2OH CH_2OH

جلوكوز   جالكتوز   مانوز

COOH

حامض جليكورونيك   زيلوز   أرابينوز

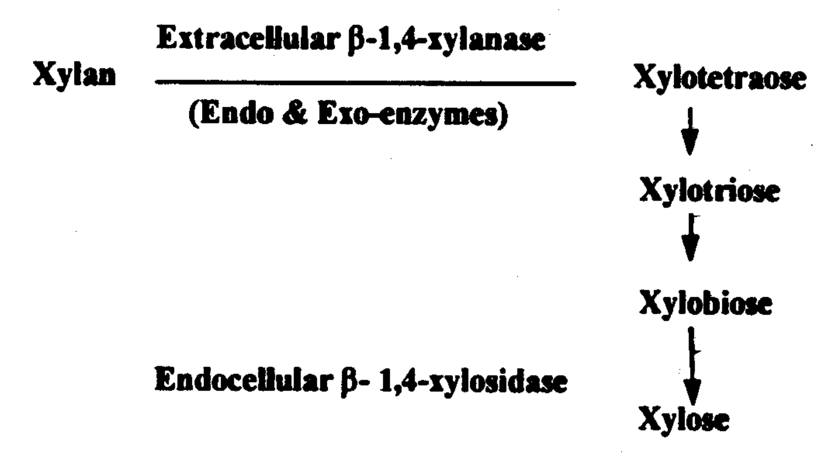
الجزيئات المكونة للزايلان

تتكون سلسلة الزايلان من وحدات زيلوز D-xylose ، وترتبط مع بعضــها بروابــط جليكوزيدية من نوع بيتا -١ ، ٤- . وقد تُشتق من سلاســل الســليلوز وذلــك بــإحلال ذرات الايدروجين محل مجموعات CH_2-OH ، وتتراوح عدد وحدات الزايلوز فى البوليمــر مــابين ٣٠-١٠٠ وحدة ، كما تحتوى بعض أنواع الزايلان على أرابينوز ، جلوكــوز ، جــالاكتوز ، جليكورونات ، وبالتالى تصبح أكثر تعقيدا من ناحية التركيب والتفرع مقارنة بالسليلوز .

يتحلل الزايلان سريعاً بفعل أعداد كبيرة من الكائنات الحية الدقيقة مقارنة بالسليلوز ، وتقوم الميكروبات المحللة للسليلوز (مثل بكتريا *Sporocytophaga myxococcoides*) بإفراز إنزيم الزايلانيز Xylanase ، وهذه الميكروبات تهاجم الزايلان فقط عندما يكون مرتبطاً بالسليلوز . وتختلف أنواع الميكروبات المحللة للزايلان ، السائدة فى التربة الزراعية ، باختلاف الظروف البيئية ، حيث تسود الفطريات فى التربة الحامضية ، وتسود البكتريا مثل *Sporocytophaga* ، فى التربة المتعادلة والقلوية .

وتتميز الفطريات بكفاءة عالية فى تحليل الزايلان ، ولذلك يعتبر الزايلان بيئة خصبة لمزارع عيش الغراب ، ويفرز إنزيم الزايلانيز بواسطة البكتريا بطريقة بنائية Constitutively كما فى حالة بكتريا *Clostridium* ، أو قد يفرز عن طريق الحث فى غيره من الميكروبات .
وانزيم الزايلانيز ، هو نظام معقد لمجموعة من الانزيمات Xylanolytic enzymes التى تعمل على تحليل جزىء الزايلان الى وحدات أصغر فأصغر ، حتى يعطى فى النهاية الزايلوز .

ويمكن توضيح مسار تحلل الزايلان بالمعادلات الخطية التالية



وبالإضافة إلى الزايلوز الناتج من تحلل الزايلان ، فقد ينتج أيضا من الزايلان مجموعة أخرى من النواتج مثل الجلوكوز ، والأرابينوز ، وذلك حسب أنواع المكونات الداخلة فى تركيب جزىء الزايلان

Starch : النشا

النشا أحد أنواع الجلوكانات * Glucans ، ويعتبر النشا المادة المخزنة الأكثر إنتشاراً فى النباتات ، حيث يتواجد على هيئة حبيبات Granules بيضاوية أو كروية أو عدسية الشكل ، فى بناء من طبقات Layered structure ، ويتكون النشا النباتى من نوعين من الجلوكان : الأميلوز Amylose والأميلوبكتين Amylopectin .
يذوب الأميلوز فى الماء الساخن بدون أن ينتفخ ، وهو مسئول عن اللون الأزرق الناتج عند إضافة اليود ، ويتكون الأميلوز من سلاسل غير متفرعة حلزونية من D-glucose ، ترتبط مع بعضها بروابط جليكوزيدية من نوع ألفا -١ ، ٤- ، ويوجد فى كل سلسلة حوالى ٢٠٠-٥٠٠ وحدة .

---

* الجلوكان Glucan : بوليمر من عديد سكريات متماثلة ، وحداتها سكر الجلوكوز Glucose ، مرتبطة مع بعضها بروابط جليكوزيدية ، وأنظر تذييل ص ٧٨٢ .

أما الأميلوبكتين فيتميز بخاصية الإنتفاخ فى الماء ، ويتحول إلى عجينة عند التسخين ، كما أنـــه بتفاعله مع اليود ، فإنه يعطى لونا بنفسجيا يتحول الى اللون البنى .

وسلاسل الأميلوبكتين عبارة أيضا عن 1,4-α-D-glucose ، ولكن يتشـــابه الأميلوبكتيـــن مـــع الجليكوجين بوجود تفرعات عند الروابط من نوع ١- ، ٦- ، والموجودة عند كل ٢٥ جـــزىء جلوكوز تقريبا ، بالاضافة الى احتواء الأميلوبكتين على أيونـــات الفوســـفات ، والماغنســـيوم ، والكالسيوم .

وعموما ، فإن خواص النشا تختلف بإختلاف مصدره ، وذلك بسبب إختلاف تفرعـــات جزىء النشا ، وعدد الوحدات الموجودة فى كل سلسلة داخله فى تركيب الجزىء .

ويوضح الشكل التالى المكونات الداخلة فى تركيب النشا .

السلسلة المتفرعة فى تركيب الأميلوبكتين

المكونات الداخلة فى تركيب النشا

نظم تحلل النشا

يتحول النشا إلى جلوكوز إما عن طريق التحلل المائى ، أو بفعل الانزيمات . ويوجـــد ثلاث نظم لتحلل النشا إنزيميا بواسطة الميكروبات

١ - التحلل المائى Hydrolysis

٢- التحلل عن طريق الفسفرة Phosphorolysis

٣- التحلل بإنتقال مجاميع الجليكوسال Transglycosylation

١- التحلل المائى : **Hydrolysis**

تقوم إنزيمات الأميليز ، ألفا وبيتا ، α- & β - amylases ، بمهاجمة جـــزىء النشـــا وتحليله مائيا ، وتفرز الميكروبات هذه الانز يمات خارج خلاياها ، ولذا فإن هـــذا التحلـــل يتـــم خارج الخلايا الميكروبية .

ويمكن توضيح مسار التحليل بالآتى

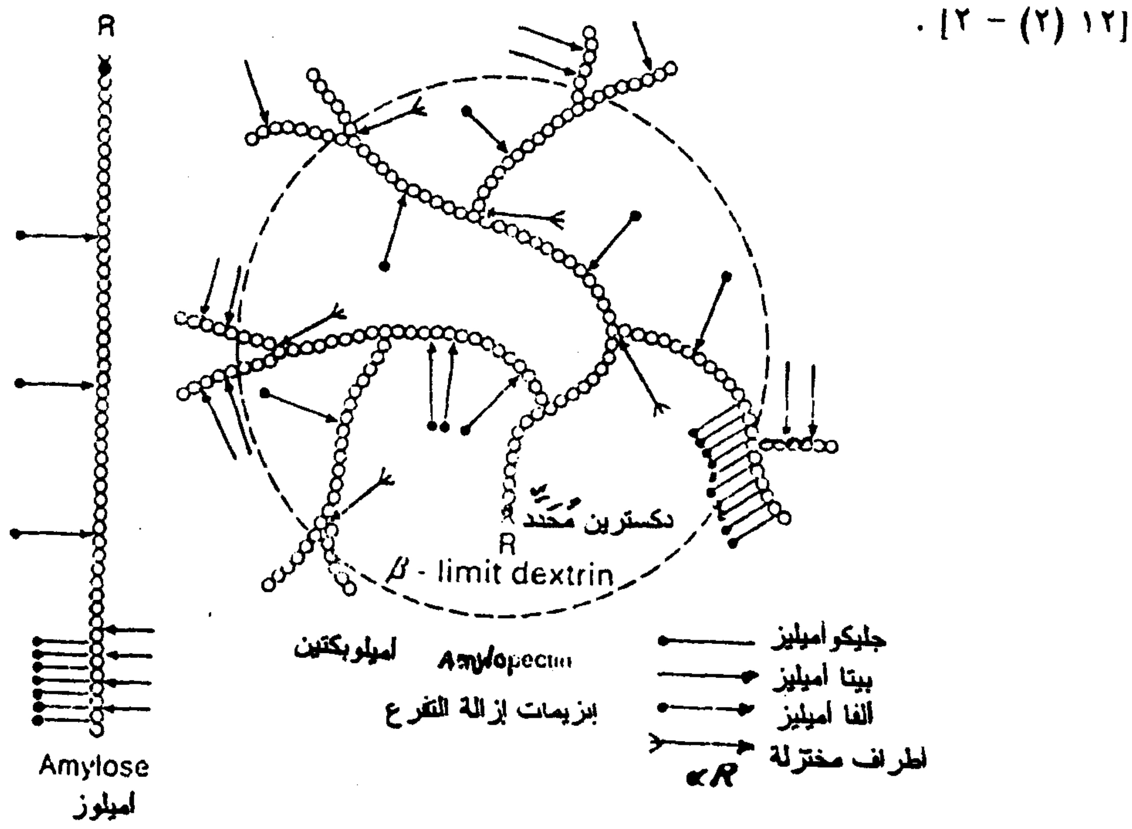
$$\text{Starch} \xrightarrow{\alpha\text{-alymase}} \text{Dextrins + Oligoaccharides} \xrightarrow{\beta\text{-amylase}} \text{Maltose}$$

$$\text{Maltose} \xrightarrow{\alpha\text{-1,4-glucosidase}} \text{Glucose}$$

ويتواجد انزيم ألفا أميليز فى النباتات والحيوانات والكائنات الحية الدقيقة ، حيث يعمـــل على تجزئة النشا بسرعة ، وذلك بمهاجمة الروابط الجليكوزيديـــة ١- ، ٤- ، بمـــا فـــى ذلـــك الروابط الموجودة فى وســـط السلســـلة ، ولذلـــك يعـــرف هـــذا الانزيـــم بـــالأميليز الداخلـــى Endoamylase

ومن نواتج تحلل النشا : المالتوز ، الجلوكوز ، الأوليجوسكريد (٣-٧ وحدات سكر الجلوكوز) .

ونظرا للتحلل السريع لجزىء النشا ، فإن لزوجة المحلول وقابليته للتفاعل مع اليود تقـــل أيضـــا بسرعة ، بينما تظهر تدريجيا السكريات المتخمرة الناتجة (جلوكوز ، مالتوز ، مالتوبيوز) ، وقـــد تظهر الدكسترينات عند تواجد إنزيمات إزالة التفرع Debranching enzymes مثـــل انزيمـــات Pullulanase أو Isoamylase ، والتى تكسر الرابطة ألفا-١ ، ٦- كما هو مبيـــن فـــى شـــكل ١٢ (٢) - ٢] .



شكل ١٢ (٢) - ٢ : أماكن عمل الانزيمات المحللة للأميلوز والأميلوبكتين .

توجد إنزيمات البيتا أميليز أساسا فى النباتات (مثل الشعير والقمح) وكذلك فى البكتريا، وتبدأ هذه المجموعة من الانزيمات عملها عند الأطراف الحرة ، غير المختزلة ، بسلسلة جزىء النشا ، وذلك عكس انزيمات ألفا أميليز ، التى تهاجم الروابط الموجودة بوسط السلسلة .

ويؤدى عمل انزيمات البيتاأميليز الى تراكم سريع للسكريات ، مع استمرارية تفاعلها مع اليود ، وتتوقف عملية التحلل بإنزيمات البيتا أميليز عند نقاط التفرع ، ويعرف المتبقى الناتج باسم الدكسترين المحدّد Limit dextrin ، لأنه حدد نشاط الإنزيم .
وبنشاط إنزيمات إزالة التفرع ، تتكسر روابط ألفا -١ ، ٦- ، ويستمر تحلل جزىء النشا وينتج المالتوز ، الذى يتحلل بدوره بفعل إنزيمات α-1,4-glucosidase (المالتيز Maltase) ، ليعطى الجلوكوز .

٢- التحلل عن طريق الفسفرة : Phosphorolysis

تتحول جزيئات النشا والجليكوجين والسكريات العديدة المشابهة على خطوات ، الى جلوكوز-١- فوسفات ، بداخل الخلايا الميكروبية ، وذلك بواسطة انزيمات الفسفرة α-1,4-glucan phosphorylases .
ويبدأ هذا التفاعل بالجزىء المعقد ، من الأطراف غير المختزلة بسلاسل الأميلوز ، وبذلك ينفرد جزىء واحد من مركب جلوكوز - ١- فوسفات ، فى كل خطوة من خطوات تحلل الأميلوز ، كما يتضح من المعادلة التالية

$$\text{Amylose } (n+2) \xrightarrow[\text{Phosphorylase}]{Mg^{2+}} \text{Glucose-1-P} + \text{Amylose } (n+1)$$

أما فى حالة الأميلوبكتين ، فإن التفاعل يتوقف عند نقاط التفرع فى روابط α-1,6- ، وبعد كسر هذه التفرعات بإنزيم Amylo-1,6-glucosidase ، تستأنف تفاعلات تحلل الأميلوز ، إلى أن ينتهى تحلل جزىء النشا .

ومن هنا نلاحظ أن إنزيمات الفسفرة Phosphorylases ، تلعب دورا هاما فى عمليات الأيض الغذائى ، وفى تخزين السكريات العديدة (الجلوكان) داخل الخلايا الميكروبية .

٣- التحلل بانتقال مجاميع الجليكوسايل : Transglycosylation

اكتشف العالم Schardinger وجود مركبات متبلورة ، وذلك عند نمو بكتريا *Bacillus macerans* فى بيئة غذائية تحتوى على النشا ، ووجد أن هذه المركبات تتكون من سلاسل حلقية مقفولة من الجلوكوز مرتبطة بروابط جليكوزيدية من نوع ألفا -١ ، ٤- . ووجد أن الحلقة الواحدة من الدكسترين الحلقى المتكون α-,β or γ-cyclodextrins ، تحتوى على ٦ أو ٧ أو ٨ جزيئات جلوكوز فى الحلقة ، وهى الجزيئات التى انتقلت من تحلل جزىء النشا بتأثير الإنزيمات الناقلة لمجاميع الجليكوسايل Transglycosylases .

على المستوى التجارى ، تنتج انزيمات الأميليز التى تحول النشا الى جلوكوز ، باستخدام فطريات مثل *Aspergillus niger, A. oryzae & A. wentii* ، كما أن هناك بعض التحضيرات الخام ، مثل المسماه Taka-diastase أو Taka-amylase ، تنتج بواسطة فطر *A. oryzae* .

أما بالنسبة للبكتريا ، فهناك أنواع عالية الكفاءة فى انتاج انزيم ألفا أميليز ، مثل *Bacillus subtilis, B. polymyxa , & B. macerans,* وذلك بالاضافة الى العديد من Streptomycetes & Pseudomonads .

كما يتم إفراز الأميليز بواسطة البكتريا المحبة للحرارة العالية مثل *B.licheniformis,* و *B. stearothermophilus* ، وبالتالى يتحمل الانزيم الناتج التسخين على درجة ١٠٠°م دون أى فقد فى نشاطه . كما أن أنواعا تابعة لجنس *Clostridium* متحملة للحرارة العالية مثل *C. thermohydrosulfuricum* و *C. thermosulfurogenes* ، تقوم بافراز إنزيمات ألفا أميليز والباليولانيز Pullulanases .

الجلوكانات الأخرى (الدكستران ، الباليولان) : Other glucans

تحتوى البكتريا والفطريات على أعداد كبيرة من الجلوكانات ، بعضها له وظيفة فى تركيب الخلايا ، والبعض له علاقة بالتخزين ، وتدخل معظم المواد اللزجة التى تفرز بواسطة الكائنات الحية الدقيقة ضمن مجموعة الجلوكانات ، ومن أهم هذه المواد الدكستران (بوليمر من الجلوكوز بروابط متعددة ، أغلبها ١ ، ٦ ألفا - جليوكوزايد) ، الذى ينتج بواسطة بكتريا *Leuconostoc mesenteroides & L. dextranicum* ، وذلك عند نموها على بيئة غذائية تحتوى على السكروز ، حيث تقوم هذه البكتريا بإفراز إنزيم Dextran saccharase (sucrase)، الذى يحول السكروز ، إلى دكستران (أنظر ص ١٠٠١) .

ويوجد الجلوكان أيضا فى الخمائر وبالأخص فى جدارها الخلوى ، بروابط β-1,6-glucan ، ويتم تحلل جلوكانات جدر الخمائر ، وكثير من الجلوكانات الأخرى ، بفعل العصير المعوى للقواقع ، لما يحتويه هذا العصير من خليط من ٣٠ انزيم أو أكثر منها: سليوليز ، مانيز، جلوكونيز ، كيتينيز Chitinase ، ليبيز Lipases . ويستخدم هذا الخليط فى تحضير بروتوبلاست الخمائر والطحالب والفطريات .

وأثناء نمو فطر الصدأ المسمى *Aureobasidium (Pullularia) pullulans* على بيئة غذائية تحتوى على الجلوكوز والسكروز ، يقوم الفطر بإفراز جلوكان يسمى باليولان* ، ويحتوى هذا الجلوكان على وحدات من Maltotriose ترتبط بروابط ألفا -١ ، ٦- جليكوزايد ، ويتم تحلل البوليولان بانزيم Pullulanase .

---

* الباليولان Pullulan

مادة لزجة عديدة التسكر ، وهو بوليمر من مالتوترايوز بروابط ألفا -١، ٦- جليكوزايد ، تفرزه أنواع من الفطريات الناقصة ، وهو يدخل فى عمل بعض المنتجات الغذائية لزيادة قوامها كما يدخل فى صناعة بعض المستحضرات الطبية .

الفركتوزان (فركتان ، ليفان) : Fructosans (Fructans, Levans)

تقوم بعض النباتات مثل الخرشوف وأبصال الداليا وبعض حشائش المراعى ، بتخزين الفركتوزان كمادة كربوهيدراتية بدلا من النشا ، ويخزن الفركتوزان فى الجذور والدرنات والأبصال والسوق والأوراق .

ومن حيث التركيب الكيميائى ، فان الفركتوزان مادة سكرية معقدة ، تتركب من وحدات من سكر الفركتوز ، والرابطة بيتا جليكوزايد بين ذرة ٢ ، ١ (β-2,1-) ، وفى بعض الأنواع توجد روابط جليكوزيدية بين ذرة ٢ و ٦ .

ويوضح الشكل [١٢ (٢) -٣] وحدات من سكر الفركتوز الداخلة فى تركيب جزىء الفركتوزان .

شكل ١٢ (٢) - ٣ : وحدات من سكر الفركتوز فى جزىء فراكتوزان الانيولين .

وتقوم بعض أنواع البكتريا بإفراز الفركتوزان (الليفان) خارج الخلايا عند نموها على بيئة تحتوى على السكروز ، وعملية تكوين فركتوزان الليفان مشابهة لعملية تخليق الدكستران ، وتتم بمساعدة إنزيمات تفرز خارج الخلايا وتسمى Laevan sucrase .

$$\text{n Sucrose} \longrightarrow \text{Fructosan (Leavan)} + \text{n Glucose}$$

ويمكن تمييز تخليق الفركتوزان بظهور نقاط صغيرة من الفركتوزان ، قرب المستعمرات النامية على بيئة تحتوى على السكروز ، ويمكن رؤية ذلك عند تنمية سلالات *Azotobacter chroococcum* , *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Streptococcus salivarius*, *S. mutans* والعديد من Pseudomonads الممرضة للنباتات والمفرزة للصبغه الفلورسنتية .

وتقوم بعض أنواع البكتريا مثل *Arthrobacter* , *Clostridium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* ، وبعض الأكتينومايسيتات مثل *Cytophaga* ، وبعض الفطريات مثل *Aspergillus niger* ، بإفراز إنزيمات التحلل المائى الخاصة بالفركتوزان ، وهى إنزيمات خارجية تحلل الفركتوزان الى وحدات أصغر فأصغر ، حتى تنتج فى النهاية السكريات البسيطة، كما تقوم بعض السلالات البكتيرية بالتحليل المائى للفركتوزان الذى قامت بتخليقه ، وذلك عند نفاذ السكروز من البيئة الغذائية .

المانان : Mannan

المانان بوليمر من المانوز بروابط جليكوزيدية ، وهو يتواجد في جذوع أشجار الصنوبريات ، حيث تصل نسبته الى ١١% من الوزن الجاف ، كما يتواجد المانان في خلايا الخميرة على صورة سكريات ذائبة يمكن استخلاصها بالكحول أو باستخدام الحرارة تحت ضغط ، وتفرز خميرة *Hansenula holstii* مانان ذائب ، ٢٠% منه مؤستر مع فوسفات ، وذلك أثناء النمو على البيئة الغذائية المحتوية على الجلوكوز .

البكتين : Pectin

يدخل البكتين فى تركيب الأنسجة الداخلية بالنباتات ، وخاصة الفواكه والعنبيات كالتوت والكريز والفراولة ، . وترجع أهمية البكتين الى الدور الذى يلعبه فى صلابة وثبات الأنسجة النباتية ، حيث يكون الصفيحة الوسطى للجدار الخلوى الذى يربط الخلايا ببعضها البعض .

والبكتين عبارة عن Polygalacturonides ، وهذه تتكون من سلاسل غير متفرعة من حامض جالاكتورونيك D-galacturonic ، مرتبط بروابط جليكوزيدية من نوع ألفا -١ ، ٤- ، ومجاميع الكربوكسيل بالحامض قد تكون فى صورة حرة أو مرتبطة بمجموعة ميثانول ، مكونة بذلك ميثيل إستر ، كما يتضح من الشكل التالى

وحدات سلسلة حمض الجلاكتورونيك حيث يحتوى بعضها على روابط ميثيل استر

ويتضمن التحلل الميكروبى للبكتين ، وجود انزيمـــات Depolymerases و Esterases وتعمل إنزيمات Pectin esterases على كسر روابط ميثيل استر ، حيث ينفرد الميثانول ، ويتـم تحليل المتبقى من أحماض الـــ Polygalacturonic بأنزيمات Polygalacturonases ، وينفـــرد حامض جلاكتورونيك فى النهاية بصورة منفردة أو على صورة سلاسل قصيرة (أوليجو) .

ويمكن بإختصار توضيح مسار التحلل بالآتى

$$\text{Pectin} \xrightarrow{\text{Pectin estrase}} \text{Pectic acid} + \text{Methanol} \xrightarrow{\text{Polygalacturonase}} \text{Galacturonic acid}$$

وهناك العديد من البكتريا والفطريات التى لها القدرة على تمثيل البكتين ، ومن الفطريات الممرضة للنبات ، المحللة للبكتين

Aspergillus niger, Aureobasidiium pullulans, Botrytis cinerea, Fusarium lycopersici, Fusarium oxysporum, Pencillium italicum, and *Rhizoctonia solani.*

ومن البكتريا المحللة للبكتين ، الممرضة للنباتات ، بكتريا *Erwinia carotovora* التى تسبب ليونة فى أنسجة الخس والجزر والكرفس .

وتصل أعداد الميكروبات المحللة للبكتين فى التربة الزراعية الى حوالى ١٠° خلية/جـم تربة ، ومن الأنواع النشـــطة فـــى تحليـــل البكتيـــن ، البكتريـــا المكونـــة للجراثيـم ومنـــها *Bacillus macerans* & *B. polymyxa* وأيضـــا العديـــد مـــــن Pseudomonads مثـــل *P. fluorescens* وبكتريا الكرش والأكتينوميسيتات والكلوستريديوم المحبة للحرارة العالية .

تلعب الميكروبات المحللة للبكتين دورا هاما فى عملية تعطين الكتان والقنـــب ، حيـــث تقوم بتحرير أحزمة ألياف السليلوز من الأنسجة النباتية المرتبطة بها ، وتقوم الفطريـــات بـــهذا الدور تحت الظروف الهوائية ، وتحت الظروف اللاهوائية تلعب البكتريا الدور الأساســـى فـــى عمليـــة التعطيـــن ، مـــع تكـــون حـــامض البيوتريـــك ، وذلـــك نتيجـــة نمـــو بكتريـــا *Clostridium felsineum* و *C. pectinovorum* .

يستخدم البكتين فى صورة أملاح كالسيوم ، فى عمل الجلى والمربات كمـــادة مثبتـــة ، وتستخدم الانزيمات المحللة للبكتين فى أغراض عديدة ، منها ترويق عصائر الفاكهة والنبيـــذ ، ويتم الحصول على هذه الإنزيمات عادة من الفطريات النامية على البكتين .

الآجـــار

الأجار من المواد الشائعة الاستخدام فى تصليب البيئات المزرعية ، ونحصـــل عليـــه تجاريا من الطحالب البحرية الحمراء التابعة لجنس *Gelidium* ، وقليل من الأنواع البكتيرية هى القادرة على تحليله ، (أنظر ص ٣٣٦) .

الكيتين (الشيتين) : Chitin

يحتل الكيتين المرتبة الثانية بعد السليلوز من ناحية الإنتشار فى الطبيعة، وهـــو يمثـل الوسط الأساسى الداعم لأنسجة النبات والحيوان . وإضافة إلى ذلك ، فإن الكيتين يعتبر المكون الأساسى للجدار الخلوى للعديد من الأكتينوميسيتات والفطريات الزقيـــة والبازيديـــة ، والـــهيكل الخارجى لكثير من اللافقاريات ، مما يؤدى الى استمرار توافره فى التربة الزراعية .

والكيتين عبارة عن سكريات عديدة أمينية ، تكون سلســـلة مســتقيمة مـــن وحـــدات N-acetyl glucose amine ، والرابطة جليكوزيدية -β-1,4 ، ويوضح الشكل التـــالى تركيـب الوحدة المكونة للكيتين .

وحدة اسيتايل جلوكوز أمين المكونة للكيتين

وهناك أعداد كبيرة من بكتريا التربة والمياه التى لها القدرة على تمثيل الكيتين منها

Bacillus, Cytophaga, Flavobacterium, Micromonospora, Nocardia Pseudomonas and *Streptomy. es.*

ومن الفطريات التى لها القدرة على تحليل الكيتين أنواع من

Aspergillus, Mucor & Mortierella

وتصل أعداد الميكروبات المحللة للكيتين بالتربة الزراعية الى $١٠^{٦}$ خلية/جـم تربـــة . ولعـــزل الاستربتوميسيس المحلل للكيتين ، تستخدم بيئات تحتوى على الكيتين كمصدر وحيـــد للكربـــون والنتروجين وملقحة براشح من التربة الزراعية .

من الانزيمات التى تشارك فى تحليل الكيتين كل مــــن Chitobiase و Chitinase ، ويتم إفراز هذه الانزيمات بواسطة *Streptomyces griseus* .

ويبدأ انزيم Chitinase بمهاجمة البوليمر وينتج وحدات مـــــن Chitobiose و Chitotriose ، التى تتحول بواسطة Chitobiase ، الى N- اسيتايل جلوكوز أمين .

ويتم تحليل الكيتين أيضا تحـــت الظـــروف اللاهوائيـــة ببكتريـــا لاهوائيـــة إجبـــارا Chitinolytic obligately anaerobic bacteria ، كما يتحلل فـــى القنـــاة المعويـــة للجمـــبرى Shrimps والكابوريا والحيوانات البحرية آكلة سرطانات البحر .

ويوضح الشكل [١٢ (٢) - ٤] مسار تحلل الكيتين .

شكل ١٢ (٢) - ٤ : مسار تحليل الكيتين .

الكيتوزان : Chitosan

يقوم فطر *Absidia coerula* بتحليل الكيتين وانتاج الكيتوزان Chitosan ، وهذا عبارة عن Polyglucosamine ، ويتكون نتيجة نزع مجموعة الاسيتايل Deacetylation من الكيتين ، ويعتبر الكيتوزان مركب هام ، حيث يستخدم كمادة لاصقة لغيارات الجروح ، وفي لصق الأوراق ، كما يضاف الى التربة الزراعية بغرض تحسين خواصها ، كما يستخدم في تغذية الحيوانات .

اللجنين : Lignin

تركيبه وأهميته

يعتبر اللجنين كميا من أهم المكونات النباتية بعد السليلوز والهميسليلوز ، وهو من أكثر مركبات البوليمر انتشارا في الطبيعة ، ويعتبر اللجنين مصدرا هاما متجددا Renewable للمركبات العطرية الكربونية .

ويمثل اللجنين حوالى ١٨ - ٣٠% من الوزن الجاف لأنسجة الخشب ، ويوجد مطمورا في أنسجة النبات وبالتحديد في الصفائح الثانوية Secondary lamellae للجدر الخلوية ، وتزداد نسبة اللجنين في جدر الخلايا ويزداد سمكها بتقدم عمر النبات .

ويتم تحليل اللجنين بيولوجيا ببطىء شديد ، إذ أنه من أبطأ المخلفات النباتية في سرعة تحلله ، ولذلك فهو يعتبر المكون الأساسى بالتربة الزراعية ، للمواد العضوية بطيئة التحلل (الدبال) ، وخاصة أحماض الهيوميك Humic .

واللجنين ليس ذو تركيب متجانس ، بل هو مركب شديد التعقيد كما هو موضح في شكل [١٢ (٢) – ٥]، الذى يوضح المكونات الداخلة فى تركيب لجنين خشب أشجار الصنوبر.

شكل ١٢ (٢) – ٥ : المكونات الداخلة فى تركيب لجنين خشب أشجار الصنوبر .

ولايرجع تعقيد تركيب اللجنين إلى وجود أعداد كبيرة من وحدات المونومر النباتية ، وهى مشتقات من فينايل بروبان Phenyl propane ، ولكن يرجع أيضا إلى الأعداد المتنوعة من الروابط التى تربط المونومرات ببعضها .

تحتوى المركبات الفينولية أو العطرية على عدد كبير من مجاميع الميثوكسيل (CH_3O-) ، وتختلف نسبة هذه المجاميع التى تدخل فى تركيب اللجنين من نبات إلى أخر ، حيث تصل فى المتوسط الى ٢١% من اللجنين فى الأشجار المتساقطة الأوراق ، والى ١٥–١٦% فى النجيليات عموما .

ويمكن توضيح الوحدة الأساسية (الفينايل بروبان) ، الداخلة فى بناء النواة العطرية للجنين فيما يلى

$$HO-C_6H_2(R)(R')-CH_2CH_2CH_3$$

وتوجد هذه الوحدة الأسلسية فى ثلاث صور ، وهى :
الصورة الأولى وفيها R, R' عبارة عن H
والصورة الثانية فيها R عبارة عن H أما R' فهى عبارة عن CH_3O
والصورة الثالثة فيها R', R عبارة عن CH_3O .

ويبين الشكل [١٢ (٢) - ٦] البنية الأساسية للفينايل بروبان فى اللجنين ، وروابط الاثير Ether (β-O-4) ، وروابط C — C ، والتى تعتبر روابط مقاومة لفعل الانزيمات - ولذلك يعتبر اللجنين فى النباتات منتج أيضى نهائي خامل ، حيث لايعاد استخدامه ، ولكن يتم مهاجمته بالميكروبات وخاصة الفطريات المحللة للخشب ، بالاضافة الى البكتريا وفطريات التربة الأخرى .

Coumaryl alcohol

Coniferyl alcohol

Guajacylglycerol-β-coniferylether

Pinoresinol

Sinapinalcohol

شكل ١٢ (٢) - ٦ : مشتقات الفينايل بروبان الداخلة فى تركيب اللجنين .

الميكروبات المحللة

يمكن تمييز مجموعتين فطريتين محللة للجنين ، من ضمن الفطريات البازيدية المحللة للأخشاب ، الأولى تسبب العفن البنى Brown rot والتى تحول الخشب الى كتلة بنية حمراء اللون ، نتيجة تحلل السليلوز والهيميسليلوز تاركة باقى البوليمر المتكون من فينايل بروبان .

أما المجموعة الثانية فتتبع الفطريات المسببة للعفن الأبيض White rot ، والتى تهاجم أساسا اللجنين تاركة معظم جزيئات السليلوز الملتصقة باللجنين .

وتشمل الفطريات المحللة للجنين
Phanerochaete chrysosporium, Polystictus versicolor & Stereum hirsutum.
ومن الفطريات المحللة فى نفس الوقت لكل من السليلوز واللجنين *Armillaria mellea,*
Ganoderma applanatum, Pleurotus ostreatus & Polyporus adustus.

وفى حالة استخدام مزارع نقية من الفطريات بغرض تحليل اللجنين ، فإن التحلل يتم ببطء شديد ، حيث تستغرق العملية من عدة شهور الى عدة سنوات .

ويعتبر فطر *Phanerochaete chrysosporium* من أنشط فطريات العفن الأبيض فى تحليل اللجنين تحت الظروف الهوائية ، حيث يتم التحليل بتأثير انزيمات Ligninases ، التى تحتوى على نوعين من الـ Peroxidases ذات الـهيم ، هما Lignin peroxidase و Manganese-dependent peroxidase ، وتحتاج إنزيمات Peroxidases إلى H_2O_2 لكى تتمكن من كسر روابط الإثير β-0-4 ether وروابط C — C .

وتفسر عملية تنظيم تخليق هذه الانزيمات ، أن تجزئة اللجنين بواسطة الفطريات ، لايتم بهدف الحصول على الطاقة من عمليات الايض الغذائى ، ولكن ، بهدف الحصول على المركبات النتروجينية الموجودة فى الخشب ، والتى لايمكن الحصول عليها إلا بهذه الطريقة .

وتبدأ مكانيكية تجزئة اللجنين بإنتقال الكترون واحد ، حيث يؤدى ذلك إلى إنتاج كاتيونات عطرية ثابتة نسبيا ، وتعمل هذه الكاتيونات بدورها على إنتاج المزيد من الالكترونات الفردية المؤكسدة بمقربة من انزيم Peroxidase . وبهذه الطريقة يتضاعف نشاط التفاعل بسرعة ، وتؤثر بعد ذلك هذه الشقوق الكيميائية Radicals فى كسر روابط الاثير ether وروابط C — C ، وبالتالى يحدث إنهيار للهيكل البنائى للجنين ، ويتحول إلى مركبات فينولية ذات وزن جزيئى منخفض ، يتم أكسدتها بفعل تأثير Phenol oxidases ، وتلعب الشقوق الكيميائية Radicals الناتجة ، دورا هاما فى نقل الالكترون الذى يُحفِّز بإنزيمات Oxygenases.

وبالرغم من أن هناك بعض الفطريات والبكتريا التى لها القدرة على تحليل اللجنين ، إلا أن تحليل اللجنين يتم ببطء شديد جدا عند مقارنته بتحليل المركبات العضوية الأخرى ، فعلى سبيل المثال ، تعتبر سرعة تحلل السليلوز ثلاثة أضعاف سرعة تحلل اللجنين ، وعند إضافة مادة عضوية نباتية تحتوى على ١٥% لجنين الى التربة ، فإننا نجد أنه بعد مرور ٦ شهور من بدء التحلل ، ترتفع نسبة اللجنين فى المادة المتحللة الى ٣٠% (لتحرر المواد السهلة التحلل) ، وبذلك ترتفع نسبة المواد الفينولية العطرية فى المواد العضوية المتبقية ، التى يتم إتحادها مع مركبات النتروجين ومركبات أخرى ليتكون الدبال الغنى بالمركبات العطرية .

ويوضح الشكل [١٢ (٢) - ٧] بعض النواتج البسيطة التركيب الناتجة من تمثيل اللجنين .

α-conidendrin

syringaldehyde, vanillin, p-hydroxy-benzaldehyde, ferulic acid

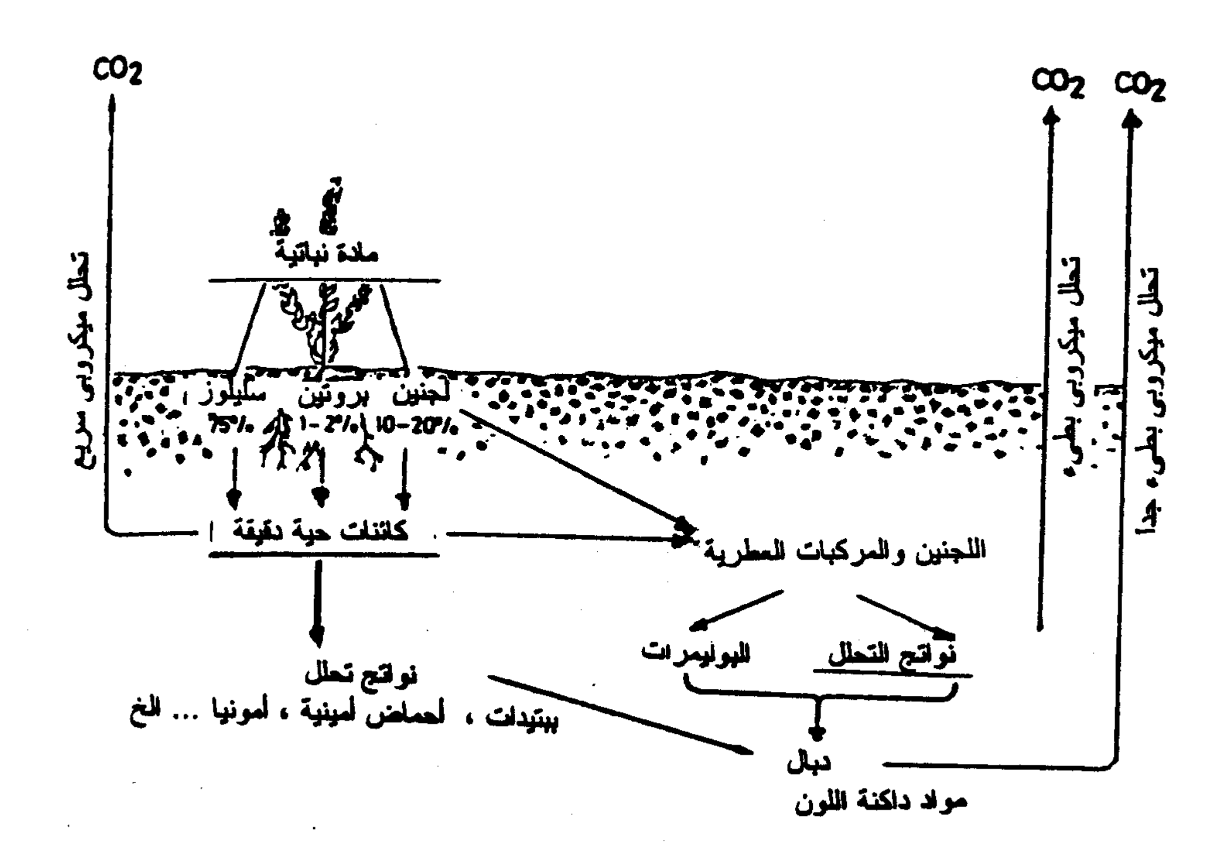
syringic acid, vanillic acid, p-hydroxy-benzoic acid, p-methoxy-benzoic acid

شكل ١٢ (٢) - ٧ : بعض المركبات الناتجة من تمثيل اللجنين .

تكوين الدبال : Formation of humus

يتم تحلل بقايا المواد النباتية والحيوانية الموجودة فى التربة الزراعية كما هو مبين فى الشكل [١٢ (٢) - ٨] ، حيث يتم إلى حد ما أكسدة كاملة وسريعة للمواد سهلة التحلل ، بينما يتبقى فى التربة المواد العضوية الأقل عرضة للتحلل الميكروبى لفترة زمنية طويلة .

وتتكون المادة العضوية المتبقية بالتربة من بقايا نباتية غير كاملة التحلل ، بالاضافة الى الدبال ، ويرجع تكوين الدبال الى تأثير كل من البكتريا والفطريات والبروتوزوا والديدان الدنيئة والراقية على المخلفات النباتية والحيوانية . والدبال Humus مصطلح يطلق على المواد العضوية ذات اللون الداكن ، ولاتتميز بشكل معين ولكنها ذات طبيعة غروية .
ولايحتوى الدبال فقط على اللجنين ، بل ويحتوى أيضا على الشموع ، والدهون ، والكربوهيدرات ، ومواد بروتينية ، إذ يحتوى الدبال فى المتوسط على حوالى ٤٥% مركبات لجنين ، ٣٥% بروتين ، ١١% كربوهيدرات ، ٣% شموع ودهون و٦% مواد عضوية أخرى.



شكل ١٢ (٢) - ٨ : تحلل وتحول المواد النباتية فى التربة الزراعية وتكوين الدبال .

يصاحب عملية تحلل البقايا النباتية (ذات نسبة ك/ن ٤٠:١) فى التربة ، الى تراكم النتروجين بالمادة العضوية ، وبالتالى تضيق نسبة ك/ن فى الدبال تدريجيا ، حتى تصل الى ١٠:١ ، ويتم إرتباط جزء كبير من هذا النتروجين مع المركبات العضوية ، مكونا لجنوبروتين وبذلك يصبح النتروجين المرتبط على صورة غير صالحة للنبات .

وتبقى نسبة الدبال الموجود فى التربة فى حالة ثابتة Steady state مابين تحلله ومابين تراكمه ، حيث أن هناك عمليات تعويض للدبال المؤكسد ، تتم عن طريق الإرتباط بالبقايا العضوية .

ويصل محتوى التربة من الدبال الى أقصاه ، عند توفر الظروف الملائمة لتكونه وغير الملائمة لتحلله ، ويعود إنخفاض مستوى الدبال فى التربة الزراعية فى المناطق الاستوائية ، للتحلل السريع للمواد العضوية بتلك الأراضى الذى يتم بواسطة العديد من الكائنات الحية الدقيقة المحبة للمناخ الاستوائى .

ولاتتوقف كمية تراكم الدبال فقط على نوع التربة والمناخ المحيط بها ، ولكن تتوقف أيضا على طبيعة البقايا النباتية ، حيث يتكون دبال سهل التحلل من قش الحشائش النجيلية ونباتات البرارى ، بينما يتكون دبال صعب التحلل من خشب الغابات وخاصة أشجار الصنوبر .

تتنوع أنواع الكائنات الحية الدقيقة الموجودة فى التربة ذات المحتوى العالى من الدبال، وتسمى الميكروبات العائشة فى التربة بصفة مستمرة ، أى بدون الحاجة إلى إضافة مواد غذائية ، ميكروبات متوطنة Autochthonous ، وذلك على عكس الميكروبات المسماه بالميكروبات المخمرة Zymogenous ، التى تسود فى التربة عند إضافة المواد العضوية .

المواد الدبالية ذات طبيعة غروية ، وقدرة عالية على الارتباط وتبادل القواعد . ويعتبر الدبال المخزن الذى تستمد منه ميكروبات التربة أحتياجاتها الغذائية سواء بطريقة مباشرة أو غير مباشرة نتيجة للتحلل والمعدنة ، كما أن المادة العضوية تحسن من بناء التربة ، ومن إحتفاظ الأراضى الخفيفة بالمياه ، كما تزيد من القدرة التنظيمية للأراضى Buffering capacity كما تحسن من خواص التربة الكيميائية .

الهيدروكربونات : Hydrocarbons

الهيدروكربونات جزيئات عضوية تتكون من الكربون والإيدروجين ، منها المشبع ومنها غير المشبع ، وقد توجد الهيدروكربونات فى صورة مركبات أليفاتية فى سلاسل مستقيمة أو متفرعة أو حلقية ، أو فى صورة مركبات عطرية .

ويتم التحلل الميكروبى للمركبات الثابتة كيميائيا ، مثل البرافينات والزيوت المعدنية والمطاط فى حالة توفر الأكسجين ، وهناك بعض التساؤلات الهامة عمليا التى مازال بعضها فى حاجة لاجابة ، منها

(١) هل يمكن للبترول الخام الذى يصل إلى التربة أو الماء أن يتأكسد بيولوجيا ؟
(٣) هل توجد كائنات حية دقيقة متخصصة لتمثيل المركبات الهيدروكربونية ؟
(٣) هل يؤخذ تواجد أعداد من الميكروبات المؤكسدة للهيدروكربونات ، كدليل على تواجد البترول أو الغاز الطبيعى فى التربة ؟

عموما تنتشر المجهريات المحللة للهيدروكربونات من بكتريا وفطريات ، فى الأراضى المنزرعة ، وفى أراضى المراعى والغابات ، كما تتواجد الهيدروكربونات فى تركيب العديد من الكائنات الحية مثل البكتريا والنباتات حيث يتم تخليقها كمواد أيض ثانوية ، ومثلها المواد الشبيهة بالشمع التى تغطى أوراق النبات .

وتحتاج عملية تكسير الهيدروكربونات الى توافر الأكسجين ، سواء بالنسبة للمركبات الأليفاتية مثل غاز الميثان ، الايثان ، البروبان ، حتى وصولا الى البرافينات الصلبة ، أو بالنسبة كذلك للهيدروكربونات العطرية بدءا من البنزول Benzol والنافثول ، ووصولا الى الانثراسين والمركبات متعددة الحلقات Polycyclic compounds .

وتدخل المواد الهيدروكربونية عبر مسارات الأيض الغذائى المركزى بعد تعرضها لتفاعلات أكسدة تمهيدية ، وتتميز هذه التفاعلات بدخول الأكسجين الجزيئى داخل الجزىء العضوى وارتباطه به ، ويشار الى هذه الخطوة بعملية الأكسجة (إضافة الأكسجين) Oxygenation ، وتتم فى وجود إنزيمات الأكسجة Oxygenases . وفى حالة دخول ذرة أكسجين واحدة للجزىء العضوى، فإن الانزيم الذى يقوم بهذا التفاعل يعرف بـ Monooxygenase ، وعند إرتباط ذرتى أكسجين بالجزىء العضوى يعمل إنزيم Dioxygenase ، وتختلف هذه الإنزيمات عن إنزيمات الأكسدة Oxidases ، وهى الإنزيمات التى تقوم بنقل ذرات الايدروجين من المانح الى الأكسجين مكونة الماء ، ولكنها لاتنقل مطلقا الايدروجين إلى الجزيئات العضوية أو المواد الخلوية .

وتختلف سرعة تحلل الهيدروكربونات بواسطة المجهريات ، بإختلاف الظروف البيئية المحيطة ، وبإختلاف أنواع الميكروبات القائمة بالتحليل ، كما تتوقف سرعة التحلل على نوع الهيدروكربون ، وعدد ذرات الكربون الداخلة فى تكوين السلسلة الكربونية ، إذ تقل سرعة التحلل بشكل واضح ، كلما استطالت السلسلة الكربونية .

أكسدة الميثان : Methane*

يحتل الميثان مكاناً متميزاً ضمن الهيدروكربونات ، حيث تقوم البكتريا التى تعجز عن تجزئة الهيدروكربونات ذات السلاسل الطويلة ، بأكسدة الميثان . ولاتعتبر هذه البكتريا ممثلة للهيدروكربونات ، ولكنها تعتبر ممثلة لمجموعة متخصصة من المركبات ، التى تحتوى على ذرة كربون واحدة ، وتعتبر هذه البكتريا من ضمن مجموعة الكائنات المؤكسدة لمجموعة الميثايل Methylotrophic ، والتى تشمل البكتريا وبعض الخمائر ، وهى الكائنات التى لها القدرة على تمثيل الميثانول ومركبات الأمين المثيلية Methylated amines ، وداى ميثايل إثير ، والفورمالدهيد ، والفورمات .

ومن أمثلة الأجناس البكتيرية التى يمكنها النمو على بيئة تحتوى على الميثان كمصدر وحيد للكربون والطاقة ، بكتريا *Methylococcus, Methylomonas & Methylosinus* .

وتتميز بعض أنواع البكتريا بالقدرة على النمو فقط على الميثان أو الميثانول أو داى ميثايل إيثر كمصدر للكربون والطاقة ، وبكونها غير قادرة على النمو على بيئة تحتوى على سكريات أو أحماض عضوية أو كحولات أخرى ، وتحصل هذه البكتريا على مايلزمها من طاقة عن طريق أكسدة الميثان إلي الميثانول ثم الفورمالدهيد والفورمات ، وأخيراً يتحول الفورمات الى ثانى أكسيد الكربون** . ويتضمن أكسدة الميثان إلى ايثانول إرتباط الميثان ، بالأكسجين الجزيئى ، فى وجود إنزيم Methane oxygenase ، حسب المعادلة التالية

$$CH_4 \xrightarrow[H_2O + X]{O_2 + XH_2} CH_3OH \xrightarrow[2\,[H]]{} HCHO \xrightarrow[2\,[H]]{H_2O} HCOOH \xrightarrow[2\,[H]]{} CO_2$$

X : مادة مانحة للايدروجين

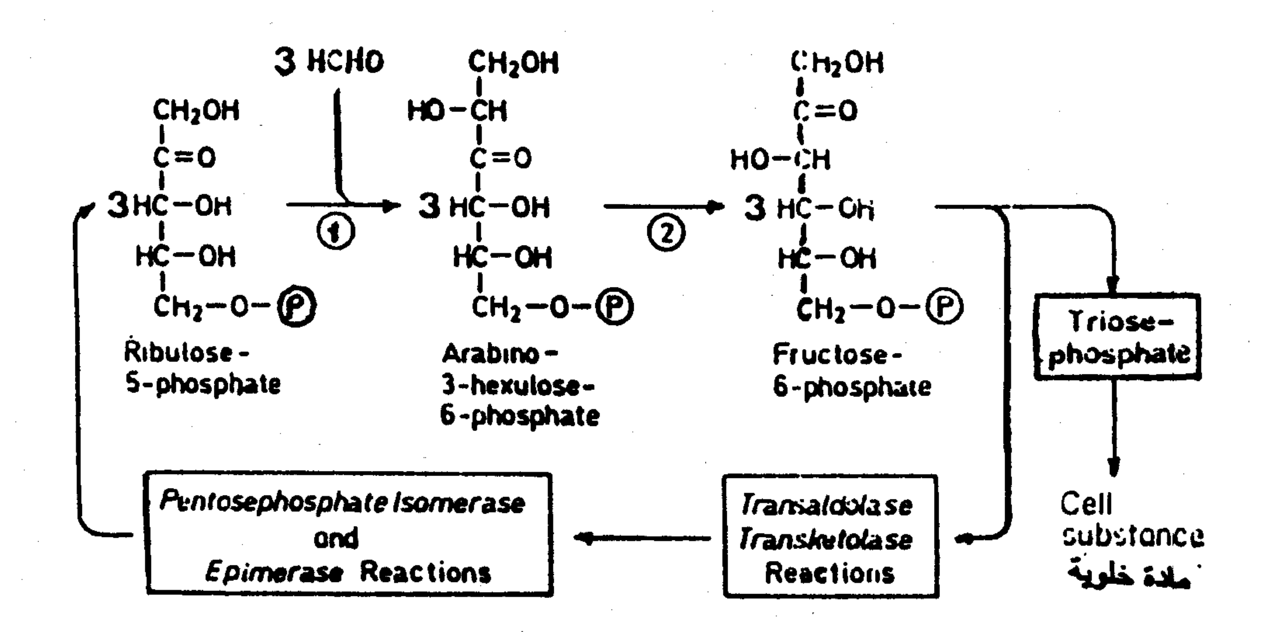
* أنظر تكون الميثان ، بالباب العاشر ، الفصل الثالث ، ص ٧٩٤ ومابليها .

** أنظر أكسدة أول أكسيد الكربون إلى ثانى أكسيد كربون ، بالباب العاشر ، الفصل الرابع ، ص ٨١٣ .

تخليق المادة الخلوية : The synthesis of cell material

تبدأ عادة عملية تخليق المادة الخلوية من الفورمالدهيد ، الذى يُنتج كمركـــب وســطى أثناء أكسدة الميثان ، وتتم عملية تخليق المادة الخلوية من خلال عدة دورات ، من أهمــــها دورة ريبلوز أحادى الفوسفات Ribulose-monophosphate cycle لتثبيـــت الفورمـــالدهيد ، ودورة السيرين Serine cycle لتمثيل المركبات C_1 ، أى ذات ذرة الكربون الواحدة .

وفى الدورة الأولى يتم تكثيف ألدولى Aldol condensation للفورمالدهيد مـــع ريبولـــوز-٥-فوسفات ، ويتكون Arabino-3-hexulose-6-phosphate ، الذى يتحول الـــى فركتـــوز -٦-فوسفات فى وجود إنزيم Isomerase [شكل ١٢ (٢) - ٩] ، ثم يعاد تحول الأخير إلى بنتـــوز-فوسفات كما فى دورة ريبيولوز ثنائى الفوسفات لتثبيت ثانى أكسيد الكربون .



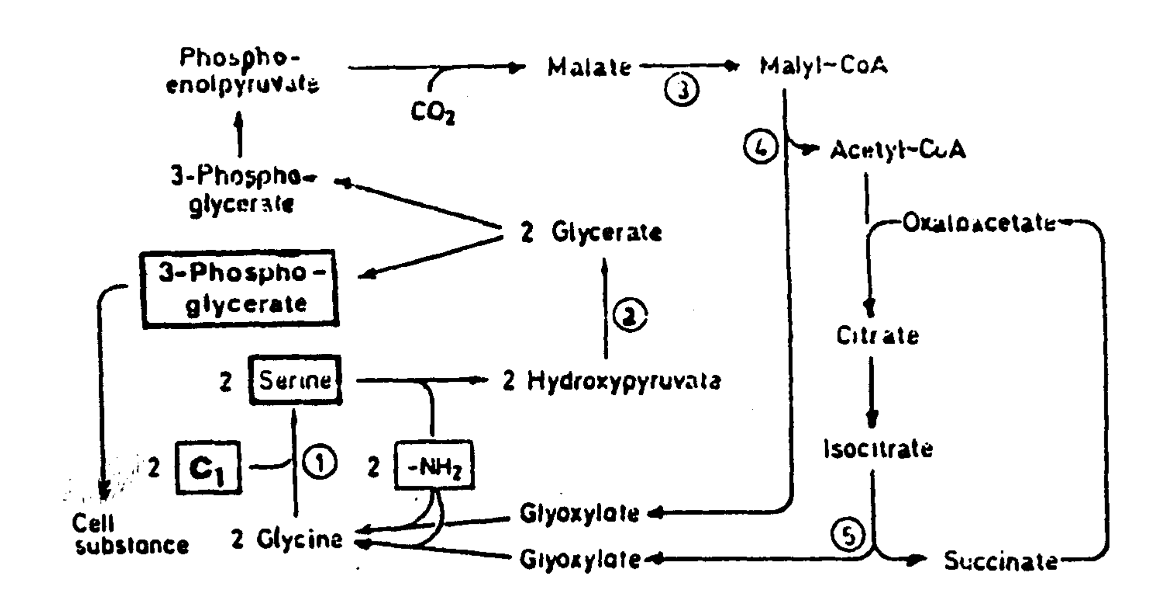
شكل ١٢ (٢) - ٩ : دورة ريبلوز أحادى الفوسفات لتثبيت الفورمالدهيد

الانزيمات المفتاحية

(1) Hexulose-phosphate synthase

(2) Hexulose-phosphate isomerase

وفى دورة السيرين والمبينة فى شكل [١٢ (٢) - ١٠] ، يندمج المركب ذو ذرة الكربون الواحدة (C_1) مع السيرين بمشاركة Tetrahydrofolate ، ثم تتوالى التفاعلات بهدف تخليق المنتجات الوسطية (Pyruvate و Phosphoenolpyruvate) ، وفى النهاية تتكون المادة الخلوية بالإضافة الى إعادة تكوين الجلايسين ، وقد تمت دراسة هذه الدورة فى بكتريا *Pseudomonas* MA و *Hyphomicrobium* X ، وقد تحدث بعض التعديلات فى دورة السيرين بالنسبة لبعض الكائنات الدقيقة الأخرى ، حيث يعمل الجلايسين كمستقبل للفورمالدهيد .
وتتواجد إنزيمات
Hydroxypyruvate reductase, Isocitrate lyase, Malyl-CoA Lyase & Malate thiokinase
فى الكائنات الحية التى تقوم بتمثيل المركبات التى تحتوى على ذرة كربون واحدة عبر دورة السيرين .



شكل ١٢ (٢) - ١٠ : تمثيل مركبات C_1 من خلال دورة السيرين

الانزيمات المفتاحية

1. Serine hydroxymethyl transferase
2. Hydroxypyruvate reductase
3. Malate thiokinase
4. Malyl-CoA lyase
5. Isocitrate lyase

Utilisation of methanol : تمثيل الميثانول

تقوم بعض الأنواع البكتيرية وبعض الخمائر بتمثيل الميثانول ، فمن البكتريا

Methylobacterium extorquens, Methylomonas clara, Hyphomicrobium, Paracoccus denitrificans , Rhodococcus erythropolis , Xanthobacter autotrophicus, ,

ومن الخمائر *Hansenula polymorpha & Candida boidinii* .

وتتنوع أنواع البكتريا الممثلة للميثانول فى قدرتها على الأيض الغذائى ، كما أن بعضها يمثل الميثانول بطريقة إجبارية ، وتستخدم بعض أنواع البكتريا التى تنمو بصورة جيدة على الميثانول ، فى إنتاج البروتين وحيد الخلية على المستوى التجارى .

تبدأ عملية تمثيل الميثانول بواسطة البكتريا ، فى وجود إنزيم ميثانول ديهيدروجينيز ، الذى يحتوى على مجموعة منضمة Prosthetic group تعرف باسم (Methoxatin) ، Pyrroloquinoline-quinone (PQQ) ، ويدخل PQQ فى تركيب الأغشية المرتبطة بانزيمات Alcohol dehydrogenases وانزيمات Amino acid oxidases ، كما يوجد الـ PQQ فى الخلايا حقيقية النواه ، بما فى ذلك الخلايا الخاصة بالجنس البشرى .

تستطيع الخمائر تمثيل الميثانول فقط بينما لاتستطيع تمثيل الميثان ، ومن هذه الخمائر *Candida boidinii* ، *Hansenula polymorpha* ، وفى الخمائر يتم إرتباط الميثانول فى جدار الخلية التى تحتوى على الفورمالدهيد ، وعبر دورة زيلولوز - أحادى الفوسفات ، ينتج داى هيدروكسى أسيتون فوسفات وجلسرالدهيد فوسفات وذلك فى وجود إنزيم Transketolase ، وبعد ذلك يتم فسفرة داى هيدروكسى أسيتون فى وجود انزيم Thiokinase ، وتدخل نواتج التفاعل فى مسارات التخليق الأخرى .

الألكان ذات السلاسل الطويلة : Long chain alkanes

هناك أعداد كبيرة من البكتريا التى تتميز بقدرتها على تمثيل مركبات الألكان ذات السلاسل الطويلة ، ويحدد طول السلسلة الكربونية ، كل من الأنواع البكتيرية القادرة على تمثيل السلسلة ، وكذلك سرعة تحلل تلك السلسلة . ومن أهم أجناس هذه البكتريا

Corynebacteria, Mycobacteria, Nocardiae & *Pseudomonas.*

وفى عام ١٩٥٠ ، تم عزل أول نوعين من الخمائر الممثلة للهيدروكربونات، وهما *Candida lipolytica & C. tropicalis* ، فى معمل تكنولوجيا التخمرات فى برلين ، وذلك باستخدام بيئات غنية بنواتج تقطير الهيدروكربون وذلك كمصدر للطاقة ، وتتميز خميرة *C. tropicalis* بقدرتها العالية على تمثيل السلاسل التى تحتوى على ١٥ ذرة كربون ، ويتراوح معامل النمو * Yield coefficient (Y) لهذه الخمائر من ٠,٧ - ١,٠ فى حالة استخدام الهيدروكربون ، بينما يصل هذا المعامل الى ٠,٥ فى حالة إستخدام الكربوهيدرات فى البيئة .

---

* معامل النمو Yield coefficient (Y) ، هو عبارة عن كمية النمو الناتجة ، لكل وحدة واحدة من كمية السكر المستهلكة بواسطة الميكروب ، أى أن

معامل النمو = وزن النمو الجاف الناتج بالجرام ÷ وزن المادة الكربوهيدراتية المستهلكة بالجرام

وكلما زاد معامل النمو ، كلما كانت كفاءة الميكروب عالية فى الاستفادة من المواد الكربوهيدراتية المستهلكة أثناء النمو

وعملية تمثيل الهيدروكربونات عبارة عن تفاعلات تأكسدية ، يلزم لها فى بدايتها وجود الأكسجين الجزيئى ، وتبدأ عملية تمثيل سلاسل الالكانات بتحويلها بالأكسدة إلى أحماض عضوية دهنية ، ثم يلى ذلك أكسدة سلاسل هذه الأحماض العضوية وذلك بطريقتين ، هما الأكسدة من طرف واحد من أطراف السلسلة Monoterminal oxidation ، أو بالأكسدة من طرفى السلسلة Diterminal .

وتعتبر الأكسدة من طرف واحد ، من أكثر طرق أكسدة السلاسل الهيدروكربونية شيوعا ، وفيها يتم أكسدة المجموعة الطرفية بالسلسلة الى مجموعة كربوكسيل ، مكونة بذلك الحامض الدهنى المعادل فى عدد ذرات الكربون للألكان الجارى أكسدته ، وتتم الأكسدة على خطوات

$$R\text{-}CH_3 \xrightarrow[①]{\text{بالأكسدة}} R\text{-}CH_2OH \xrightarrow{②} R\text{-}CHO \xrightarrow{③} R\text{-}COOH$$

سلسلة الألكان — كحول أولى — الدهيد — حامض دهنى

ويشارك فى هذه التفاعلات ، حتى تكون الحامض المقابل ، الانزيمات التالية

① Mono-oxygenase (Alkane-1-hydroxylase)

② Alcohol dehydrogenase

③ Aldehyde dehydrogenase

وفى حالة الأكسدة من طرفى السلسلة ، فإنها تتم بطريقة مشابهة للطريقة السابقة ، مع أكسدة مجموعتى الكربون الواقعتين بطرفى السلسلة ، وتحول المركب إلى حامض ثنائى الكربوكسيل فى طرفيه .

وبعد أكسدة المركب إلى حامض دهنى ، سواء أكان ذلك من طرف واحد من أطراف السلسلة ، أو من الطرفين ، فإن الحامض الناتج يتأكسد بعد ذلك بعدة طرق ، حسب نوع الميكروب المحلل .

ومن أهم طرق أكسدة سلاسل الهيدروكربونات ، بواسطة المجهريات ، مايلى

١ - الأكسدة من نوع ألفا : Alpha-type oxidation

فى هذا النوع من الأكسدة ، تتم أكسدة ذرة الكربون التى فى وضع ألفا ، وهى ذرة الكربون التى تلى مجموعة الكربوكسيل التى فى طرف سلسلة الحامض الدهنى . وتتم هذه الأكسدة على خطوات ، وتتحول مجموعة كربون ألفا ، إلى مجموعة CHOH ، وبذا يتكون حامض دهنى يحتوى على مجموعة هيدروكسى فى الوضع ألفا α-hydroxy fatty acid ، ثم تتأكسد مجموعة الهيدروكسى الى مجموعة كربوكسيل ، مع نزع مجموعة الكربوكسيل الطرفية، وبذلك ينتج حامض دهنى أقل من الحامض الأصلى بذرة كربون واحدة ، وتتكرر العملية الى أن يتحلل المركب .

$$R\text{-}CH_2\text{-}COOH \longrightarrow R\text{-}CHOH\text{-}COOH \longrightarrow R\text{-}CH_2OH + CO_2 \longrightarrow R\text{-}COOH$$

٢- الأكسدة من نوع بيتا : **βeta-type oxidation**

تعتبر هذه الطريقة من أكثر طرق أكسدة الأحماض الدهنية شيوعا وأهمية بين المجهريات ، وتؤدى أكسدة مجموعة كربون بيتا بالسلسلة ، الى إزالة مستمرة لمجموعة أسيتات Acetate group واحدة بعد الأخرى من الجزىء ، أى أن السلسلة تفقد ذرتى كربون فى كل دورة أكسدة .

وتبدأ الأكسدة بيتا بتنشيط الحامض الدهنى ، وتحويله الى ثيواستر مع المرافق الانزيمى CoA ، ثم أكسدة لمجموعة كربون بيتا فى خطوات ، وانفصال مجموعة اسيتايل من سلسلة الحامض الدهنى ، وبذلك يتبقى حامض دهنى ، أقل ، من الحامض الدهنى الأصلى بذرتى كربون ، وتتكرر العملية حسب الحاجة إلى أن يتحلل المركب .

ويتضح ذلك من شكل [١٢ (٢) - ١١] ، الذى يوضح تحلل الألكان (البرافينات) من خلال الأكسدة الطرفية الى حامض دهنى ، ثم حدوث أكسدة من نوع بيتا للحامض الدهنى الناتج من أكسدة الألكان . والذى نوجز خطواته فى الآتى

$$\underset{\text{ألكان}}{R-CH_2-CH_2-CH_3} \xrightarrow{①,\ ②,\ ③} \underset{\text{حامض دهنى}}{R-CH_2-CH_2-COOH} \xrightarrow[ATP \quad AMP + ppi]{④ + CoA}$$

$$R-CH_2-CH_2-CO\sim SCoA \xrightarrow{⑤,\ ⑥} R-CHOH-CH_2-CO\sim SCoA \xrightarrow{⑦}$$

$$R-CO-CH_2-CO\sim SCoA \xrightarrow{⑧} R-COOH + \underset{\text{أسيتايل كو أ}}{CH_3-CO\sim SCoA}$$

شكل ١٢ (٢) - ١١ : تحلل الألكان (البرافينات) من خلال الأكسدة الطرفية بـإنزيم Mono-oxygenase ثم الأكسدة من نوع بيتا الى أسيتايل CoA .

الانزيمات المشاركة

① Alkane -1- hydroxylase (Mono-oxygenase)
② Alcohol dehydrogenase
③ Aldehyde dehydrogenase
④ Acyl- CoA synthetase
⑤ Acyl- CoA dehydrogenase
⑥ Hydroxyacyl- CoA hydroxylase
⑦ 3-hydroxyacyl- CoA dehydrogenase
⑧ β-ketothiolase

الهيدروكربونات العطرية : Aromatic hydrocarbons

تنتج النباتات العديد من المركبات العضوية التى تحتوى على حلقات عطرية ، ومن بين هذه المركبات ، يعتبر اللجنين هو المركب السائد من ناحية الكم ، حيث يمثل حوالى ٢٠% من وزن الخشب ، كما تدخل المركبات العطرية فى تركيب الدبال وبعض مبيدات الآفات ، وكذلك فى تركيب الميلانين الذى تفرزه كثير من الأكتينومايسيتات والفطريات .

وعندما تصل هذه المركبات العطرية الى التربة ، فإنها تتعرض بشدة إلى تأثير الميكروبات ، وتتحلل هذه المركبات تحت الظروف الهوائية ، ويعتبر توفر الأكسجين عامل هام لحدوث كسر بالحلقات العطرية ، ويتوقف سرعة تحلل هذه المواد ، على نوع وعدد وأماكن الاستبدال الواقعة على حلقة البنزين بالمركب ، وعلى عدد الحلقات الداخلة فى تكوين المركب ، فكلما إزداد عدد الحلقات بالمركب ، كلما إزداد صعوبة فى تحلله .

من حيث الميكروبات المحللة للهيدروكربونات العطرية ، فإن البكتريا تلعب دورا أساسيا فى تحلل المركبات التى تحتوى على حلقة أو حلقتين أو ثلاث حلقات من حلقات البنزين مثل مركبات الفينول والنفثالين والأنثراسين Phenols, Naphthalene and Anthracene . ومن اجناس البكتريا المحللة *Arthrobacter, Mycobacterium, Pseudomonas* and *Bacillus* . وبالإضافة إلى البكتريا فقد تلعب بعض أنواع الأكتينومايسيتات والفطريات دورا فى التحليل .

تبدأ الخطوات الأولى فى تحلل المركبات العطرية بواسطة الميكروبات ، بإجراء تعديلات أو إزالة للمجموعات الاستبدالية الواقعة على الحلقة العطرية ، وإدخال مجموعات هيدروكسيل .

ففى حالة الحلقات العطرية الفينولية ، تضاف مجموعة OH– للحلقة بإنزيم Mono-oxygenase ، حيث يتم ارتباط أحد ذرات جزىء الأكسجين واختزال الذرة الأخرى الى ماء ، ثم يتكون كاتيكول

$O_2 + XH_2 \quad H_2O + X$

Phenol فينول → (Mono-oxygenase) → Catechol كاتيكول

وفى حالة حلقة البنزين العطرية التى ليس عليها مجاميع استبدالية فيعمل إنزيم Dioxygenase ، بما يؤدى الى إضافة مجموعتى OH– للحلقة ، ثم تكون كاتيكول

Benzene → (O_2, XH_2 → X; *Dioxygenase*) → *cis*-1,2-Dihydro-1,2-dihydroxy-benzene → (X → XH_2; *Dehydrogenase*) → Catechol

وفى حالة الحلقة العطرية التى عليها مجموعة استبدالية مثل CH_3 ، كما فى مركب التولوين ، فإن التفاعل يسير كالآتى ، مع تكوين مركب الكاتيكول

$$R\text{-}CH_3 \rightarrow R\text{-}CH_2OH \rightarrow R\text{-}CHO \rightarrow R\text{-}COOH \rightarrow R\text{-}(OH)_2$$

Toluene → Benzyl alcohol → Benzyl aldehyde → Benzoic acid → Catechol

عموما ، فإن أهم المركبات الحلقية الوسطية الناتجة من تحلل المركبات العطرية ، هى الثلاث مركبات التالية ، Catechol, Protocatechuic acid and Gentisic acid ، التى يحتوى كل منها على مجموعتى هيدروكسيل ، وبوصول المركب العطرى إلى هذه النواتج الوسطية ، فإن الحلقة تصبح مهيأة للكسر بواسطة الميكروبات .

Catechol

Protocatechuic acid (3,4 dihydroxy benzoic acid)

Gentisic acid (2,5 dihydroxy benzoic acid)

المركبات الحلقية الوسطية الثلاثة الناتجة من تحلل المواد العطرية ، تتأكسد هوائيا بواسطة الميكروبات ، حيث أن كسر الحلقة يحتاج الى أكسجين الهواء الجوى ، وفى غيابه ، أى تحت الظروف اللاهوائية ، فأن المركبات العطرية الوسطية الناتجة تبقى متراكمة بالوسط . ويلى التأكسد الهوائى ، فتح حلقة البنزين ، ثم تكون مواد أساسية مثل أحماض أستيك ، بيروفيك ، سكسنيك ، فيوماريك ، وأسيتالدهيد ، وهى مواد سهلة التمثيل بواسطة الميكروبات .

كسر الحلقة العطرية : Aromatic ring cleavage

يتم كسر الحلقة العطرية بإنزيمات Dioxygenases فى وجـــود أكســجين جزيئــى ، ويحدث الكسر إما بين مجموعتى هيدروكسيل متجاورتين (Ortho cleavage) ، أو بين ذرتــى كربون متباعدتين أحدهما يحمل مجموعة هيدروكسيل والأخرى خالية من هذه المجموعة (Meta cleavage) ، وقد تم فصل هذه الانزيمات عند إنماء بعض أنواع من *Pseudomonas* .

ويبين الشكل [١٢ (٢) - ١٢] أهم نظم كسر الحلقات العطرية .

Catechol
cis,cis-Muconate
Muconolactone
4-Oxoadipate enollactone
Protocatechuate
3-Carboxy-cis,cis-muconate
4-Carboxy-muconolactone
CO_2
3-Oxoadipate
3-Oxoadipyl-CoA
CoA
Acetyl~CoA
Succinate
Succinyl~CoA

شكل ١٢ (٢) - ١٢ : كسر الحلقة العطرية فى الوضع أورثو ، ومسار 3-oxoadipate

الانزيمات المشاركة

1. Pyrocatechase (Catechol-1,2-dioxygenase)
2. Muconate cycloisomerase
3. Muconolactone isomerase
4. Protocatechuate-3,4-dioxygenase;
5. 3-carboxymuconate cycloisomerase
6. 4-carboxymuconolactone decarboxylase;
7. 4- oxoadipatenollactone hydrolase
8. 3-oxoadipate-succinyl-CoA transferase
9. 3-oxoadipyl-CoA thiolase

كسر الحلقة فى وضع أورثو : Ortho cleavage

كسر أورثو هو الكسر الذى يحدث بالحلقة ، بين ذرات الكربون المتجاورة ، التى تحمل كل منها مجموعة هيدروكسيل ، وتنتج أحماضا ثنائية الكربوكسيل . ويتم التفاعل فى وجود الإنزيم Dioxygenase والأكسجين .

كسر الحلقة العطرية فى الوضع أورثو

Catechol → (O_2, Dioxygenase) → *cis,cis*-Muconate

ويتم كسر حلقة الكاتيكول بواسطة إنزيم Ortho-pyrocatechase (Catechol- 1,2-dioxygenase) ، بينما يتم كسر حلقة Protocatechuate بواسطة إنزيم Protocatechuate –3,4-dioxygenase ، ويكون ناتج التحلل بهذين الإنزيمين ، مركبات cis, cis-muconate & 3-carboxy cis-cis muconate .

ثم تتوالى عمليات الأيض عبر المركب الوسطى المشترك 3-Oxoadipate ، الذى يتم تنشيطه بواسطة CoA transferease ، ويتكون بعد ذلك سكسنايل CoA ، وأسيتايل CoA [شكل ١٢ (٢) – ١٢] .

كسر الحلقة فى وضع ميتا Meta cleavage

يتم ذلك عندما يحدث الكسر بالحلقة بين ذرتى كربون متباعدتين ، أحدهما تحمل مجموعة هيدروكسيل (OH-) والأخرى لاتحمل مجموعة OH- ، وفى وجود إنزيمات Dioxygenases .

ويعتبر المركب 2-hydroxy-muconate semi-aldehyde من نواتج كسر الحلقة فى وضع ميتا ، [شكل ١٢ (٢) – ١٣] ، حيث يدخل فى مسارات الأيض الغذائى عن طريق البيروفات أو الأسيتالدهيد أو الأكسال أسيتات أو الأسيتوأسيتات ، أو الفيومارات أو السكسينات ، ويتوقف ذلك على نوع المجموعات المستبدلة Substituents ، على الأحماض الأليفاتية الناتجة.

Catechol → (O_2, ①) → 2 - Hydroxy-muconate-semialdehyde

Protocatechuate → (O_2, ②) → 2 - Hydroxy-4 - carboxymuconate-semialdehyde

شكل ١٢ (٢) – ١٣ : كسر الحلقة العطرية فى الوضع ميتا

الانزيمات المشاركة

① Metapyrocatechase (Catechol-2,3-dioxygenase)
② Protocatechuate - 4,5-dioxygenase

ويوضح الشكل [١٢ (٢) - ١٤] عمليات الأيض الهدمى للمركبات العطرية التى تنتهى بتكوين الكاتيكول Catechol .

كما يوضح الشكل [١٢ (٢) - ١٥] العمليات التى تنتهى بتكوين البروتوكاتيكوات Protocatechuate .

شكل ١٢ (٢) - ١٤ : مسارات الأيض الهدمى للمركبات العطرية التى تنتهى بتكوين الكاتيكول .

شكل ١٢ (٢) - ١٥ : مسارات الأيض الهدمى للمركبات العطرية التى تنتهى بتكوين بروتوكاتيكوات .

تحلل المركبات العطرية متعددة الحلقات : Degradation of polyaromatic compounds

توجد بعض أنواع من البكتريا القادرة علـــى تحلـــل الـــهيدروكربونات ذات الحلقـــات المتعددة مثل النفثالين Nephthalene (حلقتين) ، والأنثراســـين Anthracene (ثـــلاث حلقـــات) والفينانثرين Phenanthrene (ثلاث حلقات) ، وقد تكون الأكسدة كاملة أو غير كاملة .

وجدير بالذكر أن هناك بكتريا قادرة تحت ظروف بيئية مناسبة ، على تحليل حتى الأسفلت ولكن بمعدل بطيء جدا ، كما أن من البكتريا مايقوم بأكسدة الجرافيت فى الأراضى الغنيـــة بالنشـــاط الميكروبى .

وعندما تتعرض المركبات عديدة الحلقات لتأثير البكتريا ، ففى كل دورة تحلـــل تزيـــل البكتريا حلقة بنزين واحدة ، وفى النهاية تنتج مركبات وسطية ذات حلقة بـــنزين واحـــدة مثـــل Catechol, Gentisic acid & Salicylic acid ، وتستمر هذه المركبات فـــى تحللـــها بتـــأثير البكتريا، كما ذكر سابقا ، وكما هو موضح فى التفاعلات التالية [شكل ١٢ (٢) - ١٦] .

Phenanthrene → 1-Hydroxy-2-naphthoic acid → 1,2-Dihydroxynaphthalene ← Naphthalene

1,2-Dihydroxynaphthalene → Salicylic acid

Anthracene → 3-Hydroxy-2-naphthoic acid → Salicylic acid → Catechol

β-Naphthol → Gentisic acid

شكل ١٢ (٢) - ١٦ : تحلّل المركبات ذات الحلقتين وذات الثلاث حلقات .

الأيض الغذائى المشترك ، الأكسدة المشتركة : Co-metabolism, Co-oxidation

بعض المواد لاتستطيع الميكروبات أن تحللها أو تستفيد من نواتج تحللها ، إلا فى وجود مواد أخرى مساعدة Co-substrates تساعد على تمثيلها . وتسمى هذه الظاهرة بالأيض الغذائى المشترك أو بالأيض الغذائى المساعد .

كما لوحظ أن بعض الميكروبات رغم قدرتها على تحليل المركبات الأليفاتية ، إلا أنها لاتستطيع أن تستخدمها كمصدر للكربون لبناء خلاياها ، وفى مثل هذه الأحوال ، يضاف للبيئة مصدرا كربونيا آخرا مناسبا ، للمساعدة على نمو تلك الميكروبات ، بما يعنى أن أيض المادة الأليفاتية بمفرده لايكفى لإمداد الخلية الميكروبية بإحتياجاتها الخاصة بالنمو ، ولكن نواتج التحلل مع مواد أخرى مساعدة ، يجعل الوسط صالحا لنمو تلك الميكروبات ، ويعود ذلك إلى ظاهرة الأيض الغذائى المشترك .

ولهذه الظاهرة أهميتها ، لأنها تلعب دورا هاما فى تحليل بعض المركبات الكيميائية بواسطة الميكروبات ، دون أن تدخل تلك نواتج المركبات فى بناء خلاياها .

ويستفاد من هذه الخاصية فى التخلص من المواد الصناعية المخلقة ، وذلك بخلط النفايات الصناعية السائلة ، المحتوية على مواد مخلقة يصعب تحللها ، بمياه المجارى الآدمية فى أحواض معاملة مياه المخلفات ، وبذلك يسهل تحليل تلك المواد المخلقة والتخلص منها .

كما تتضح أهمية هذه الظاهرة فى تحلل اللجنوسليلوز بواسطة الفطر البازيدى *Phanerochaete chrysosporium* . فنواتج تحلل السليلوز والجلوكوز وخلافه ، تمكن الفطر من تكسير الهيكل البنائى للجنين .

البروتينات : Proteins*

البروتينات مركبات عضوية نتروجينية ، ذات خواص غروية ، توجد بخلايا المجهريات وبأنسجة الكائنات الحية ، والبروتينات ذات وزن جزيئى مرتفع قد يصل لعدة ملايين فى بعض الأنواع ، ويتكون البروتين من عدد من الأحماض الأمينية ، التى ترتبط مع بعضها بروابط ببتيدية ، فى تتابع متخصص ، لتكون سلسلة من عديدات الببتيد (بولى ببتيدات) . ولهذه السلسلة تركيب بنائى مميز ، يعمل على تثبيته وجود روابط متعددة تساهمية أو غير تساهمية ، تعمل على المحافظة على الشكل البنائى للبروتين ، وهو الذى يعطى للبروتين صفاته المميزة .

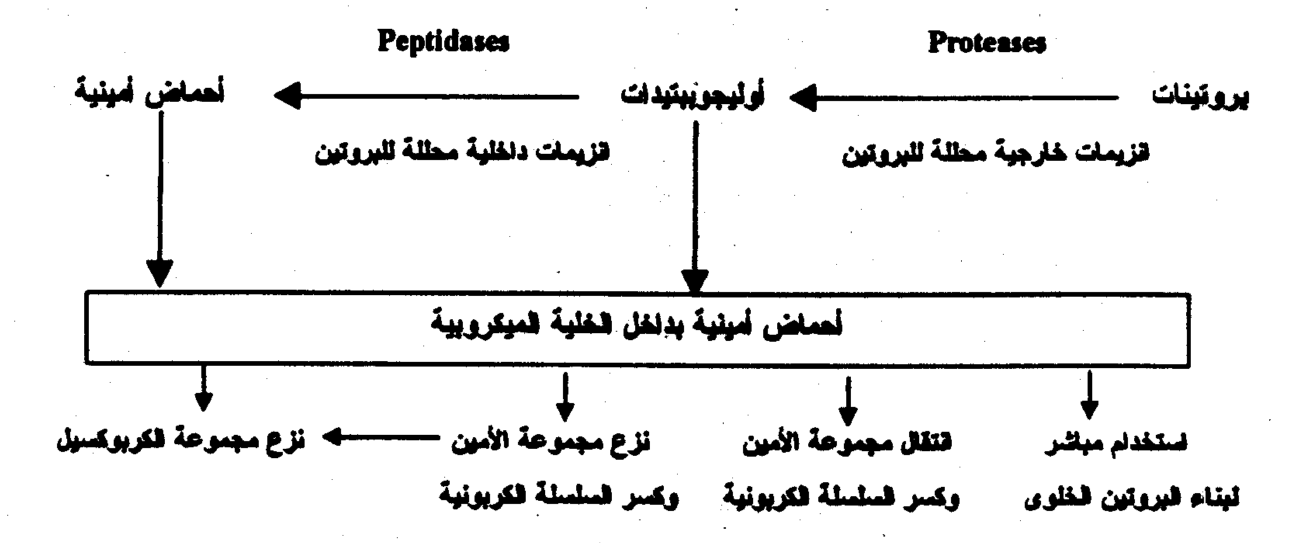
وتقوم المجهريات الحية ، ومنها البكتريا والفطريات ، بتحليل البروتينات والمخلفات البروتينية بما تفرزه من إنزيمات Proteinases محللة للبروتين ، ومن هذه الإنزيمات مايفرز خارج الخلايا الميكروبية Extracellular enzymes مثل إنزيمات الـ Proteases ، التى تقوم بكسر السلسلة الببتيدية لجزىء البروتين بالتحلل المائى ، وتحول البروتين إلى سلاسل أقصر من الأوليجوببتيدات ، ثم يبدأ تكسير الأوليجوببتيدات التى تم إمتصاصها داخل الخلايا الميكروبية ، بواسطة الإنزيمات المفرزة داخل الخلايا Intracellular enzymes مثل إنزيمات الـ Peptidases ، وهذه تحلل الروابط الببتيدية بالسلسلة الببتيدية ، وتحول الببتيد فى النهاية الى أحماض أمينية

* أنظر الباب التاسع ، الفصل الثالث : أشكال البروتين التركيبية ص ٧٠٦ ومايليها .

وأنظر خطوات تخليق البروتين ص ٧١١ ومايليها .

بروتين ← بروتيوز ← ببتون ← أوليجوببتيد ← ببتيد ثنائى ← أحماض أمينية

الأحماض الأمينية الناتجة من تحلل البروتين ، قد تستخدم بواسطة الميكروبات مباشرة، أو تدمج بالبروتينات الخلوية ، أو يتم تحللها بنزع أو بنقل مجموعة الأمين أو بنزع مجموعة الكربوكسيل منها ، وذلك عبر مسارات متخصصة .
ثم تدخل النواتج كمركبات وسطية فى المسارات الأيضية مع إنطلاق الطاقة .
ويتضح ذلك من الشكل التخطيطى[١٢ (٢) - ١٧] التالى



شكل ١٢ (٢) - ١٧ : رسم تخطيطى لتحلل جزىء البروتين أثناء عمليات الهدم الأيضى (Catabolism) خارج وداخل الخلايا الميكروبية ، وتحولات الأحماض الأمينية الناتجة من التحلل

بعض الانزيمات المحللة للبروتين المفرزة خارج الخلايا الميكروبية Extracellular proteases ، منها مايؤثر كتوكسينات ، أو يعمل على زيادة ضراوة الميكروب الممرض ، ومن هذه المواد المفرزة

Elastase, Haemolysin, Lysotaphine, Streptokinase and Subtilisin

كما أن بعضا من إنزيمات الـ Proteases تستخدم فى الصناعة ، كما فى دبغ الجلود وعمل المنظفات .

طرق تحلل الأحماض الأمينية

تتحلل الأحماض الأمينية بواسطة المجهريات ، بنزع مجموعة الكربوكسيل Decarboxylation ، أو بنزع مجموعة الأمين Deamination ، أو بنقل مجموعة الأمين Transamination .

I- التحلل بنزع مجموعة الكربوكسيل Decarboxylation

فى هذا النظام ، يقوم الميكروب بنزع مجموعة الكربوكسيل من الحـــامض الأمينـــى ، بواسطة إنزيمات Decarboxylases ، ويكون ناتج التحلل CO_2 مع تكـــون مركبـــات قاعديـــة تعرف بالأمينات Amınas حسب المعادلة العامة

$$R\text{-}\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}}\text{-}COOH \xrightarrow{\text{Decarboxylase}} R\text{-}\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH_2}} + CO_2$$

امين أولى

الأمين الناتج قد ينحلل مائياً مع تكوين كحول ونشادر

$$R-\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH_2}} + H_2O \longrightarrow \underset{\text{كحول}}{R\text{-}CH_2OH} + \underset{\text{نشادر}}{NH_3}$$

وتنتج الأمينات الاولية ، وكانت تعرف سابقا باسم Ptomaines* ، بالأمعاء أثناء عملية الهضم ، كما تنتج تحت ظروف التحلل اللاهوائية للمواد البروتينية .

ومن أمثلة الأمينات المتكونة Agmatine, Cadaverine, Putrescine

وهى تنتج من تحلل الاحماض الأمينية التالية على التوالى Argınine, Lysine, Ornithine

ومن امثلة التفاعلات الخاصة بنزع مجموعة الكربوكسيل

$$\underset{\text{Arginine}}{\begin{matrix}NH\\H_2N\end{matrix}\!\!>\!C-NH-(CH_2)_3-CHNH_2-COOH} \longrightarrow \underset{\text{Agmatine}}{\begin{matrix}HN\\H_2N\end{matrix}\!\!>\!C\text{-}NH\text{-}(CH_2)_3-CH_2NH_2} + CO_2$$

$$\underset{\text{Lysine}}{H_2N-(CH_2)_4-CHNH_2\text{-}COOH} \longrightarrow \underset{\text{Cadaverine}}{H_2N\text{-}(CH_2)_4-CH_2NH_2} + CO_2$$

$$\underset{\text{Ornithine}}{H_2N-(CH_2)_3-CHNH_2-COOH} \longrightarrow \underset{\text{Putrescine}}{H_2N-(CH_2)_3-CH_2NH_2} + CO_2$$

II- التحلل بنزع مجموعة الأمين : Deamination

فى هذا النظام يقوم الميكروب بنزع مجموعة NH_2- ، من الحامض الأمينى مع تكوين أمونيا ، ويتم ذلك بعدة طرق منها الأكسدة والاختزال والتحلل المائى وعدم التشبع .

وتعتبر عملية نزع مجموعة الأمين بنظام الأكسدة ، من أكثر الطرق شيوعا بين المجهريات فـــى تحليل الأحماض الأمينية .

* التومينات Ptomaines ، أمينات أولية تنتج من تحلل الأحماض الأمينية لاهوائيا ، وهى مواد ذات رائحة عفنة ، ومنها مايسبب فساد وتسمم الأغذية .

٢-١- نزع مجموعة الأمين بالأكسدة : Oxidative deamination

وفى هذا النظام ينتج حامض كيتونى (حامض ألفا كيتو α-keto acid)

$$R\text{-}\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}}-COOH + O_2 \longrightarrow R-CO-COOH + NH_3$$

كما يحدث فى تحول حامض الجلوتاميك إلى ٢ أوكسو جلوتاريك بواسطة إنزيم Glutamic dehydrogenase ، حسب المعادلة

$$\underset{\text{حامض جلوتاميك}}{COOH-CH_2-CH_2-CHNH_2-COOH} \rightarrow \underset{\text{حامض ٢- أوكسوجلوتاريك}}{COOH-CH_2-CH_2-CO-COOH} + NH_3$$

٢-٢- نزع مجموعة الأمين بالاختزال : Reductive deamination

وفى هذا النظام يتكون حامض دهنى أليفاتى

$$R\text{-}\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}}\text{-}COOH + H_2 \longrightarrow R\text{-}CH_2-COOH + NH_3$$

٢-٣-نزع مجموعة الأمين بالتحلل المائى : Hydrolytic deamination

وفى هذا النظام يتكون حامض به مجموعة إيدروكسيل (حامض ألفا هيدروكسى)

$$R\text{-}\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}}\text{-}COOH + H_2O \longrightarrow R\text{-}CHOH-COOH + NH_3$$

ويتم تحلل اليوريا بالتحلل المائى بواسطة إنزيم اليوريز ، الذى تفرزه بكتريا *Bacillus pasteurii, B. sphaericus, Sporosarcina ureae* ، حسب المعادلة

$$\underset{\text{يوريا}}{H_2N-CO-NH_2} + H_2O \xrightarrow{\text{Urease}} \underset{\text{كربامات الأمونيوم}}{H_2N-COO\text{-}NH_4} \longrightarrow 2NH_3 + CO_2$$

٢-٤- نزع مجموعة الأمين بعدم التشبع Desaturative deamination

وفى هذا النظام يتكون حامض غير مشبع

$$R\text{-}CH_2-\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}}-COOH \longrightarrow R\text{-}CH=CH-COOH + NH_3$$

كما يحدث عند تحول حامض الأسبارتيك إلى فيوماريك بإنزيم الاسبارتيز

$$\underset{\text{حامض اسبارتيك}}{HOOC-CHNH_2-CH_2-COOH} \xrightarrow{\text{Aspartase}} \underset{\text{حامض فيوماريك}}{HOOC-CH=CH\text{-}COOH} + NH_3$$

٢-٥- نزع مجموعة الأمين بالأكسدة والاختزال معا *

Oxidative-reductive deamination

فى هذا النظام يقوم الميكروب باستخدام حامضين أمينيين فى وقت واحد ، أحدهما يختزل والآخر يؤكسد ، مع نزع مجاميع الأمين من الحامضين وتكوين أمونيا ، ويعرف هذا التفاعل باسم تفاعل استكلاند نسبة إلى مكتشفه Stickland ، الذى لاحظه فى البكتريا اللاهوائية *Clostridium sporogenes* ، ومن خلال هذا التفاعل التزاوجى Coupled oxidation- reduction reaction ، تستطيع هذه البكتريا الحصول على مايلزمها من طاقة ، حيث تعمل أحماض أمينية مثل الالانين والليوسين والفالين كمانحة للالكترونات ، وتعمل أحماض مثل الجلايسين ، والبرولين ، والأرجنين والتربتوفان كمستقبلة للالكترونات .

وتوضح المعادلة العامة التالية ، تفاعل استكلاند بواسطة بكتريا *Cl. sporogenes* (أنظر ص ٨٩٢)

$$\text{Alanine} + 2\ \text{Glycine} + 2H_2O \longrightarrow 3\ \text{Acetate} + 3\ NH_3 + CO_2$$

III- التحلل بنقل مجموعة الأمين : Transamination

تُستخدم هذه التفاعلات بواسطة الأحياء المجهرية ، لتخليق بعض الأحماض الأمينية، التى لايمكن إضافة مجموعة أمين اليها مباشرة بواسطة الأمونيوم ، كما تستخدم هذه التفاعلات أيضا فى هدم بعض الأحماض الأمينية .

وفى هذه التفاعلات يتم نقل مجموعة الأمين من الحامض الأمينى بواسطة الإنزيمات الناقلة لمجاميع الأمين Transaminases

$$\begin{array}{c}R_1\\|\\CH\text{-}NH_2\\|\\COOH\end{array} + \begin{array}{c}R_2\\|\\CO\\|\\COOH\end{array} \xrightarrow{\text{Transaminases}} \begin{array}{c}R_1\\|\\CO\\|\\COOH\end{array} + \begin{array}{c}R_2\\|\\CH\text{-}NH_2\\|\\COOH\end{array}$$

الميكروبات المحللة للبروتين ونواتج التحلل

توجد أعداد ضخمة من المجهريات القادرة على تحليل البروتين ، ويتضمن ذلك البكتريا الهوائية والاختيارية واللاهوائية ، والأكتينومايسيتات والفطريات ، والنواتج النهائية لتحلل البروتين هوائيا هى NH_3, CO_2, H_2O, H_2S .

أما التحلل تحت الظروف اللاهوائية ، فإنه عادة مايصحبه تصاعد روائح كريهة ، وتسمى هذه العملية تعفن Putrefaction ، وفى هذه الحالة فإن نواتج التحلل تكون عبارة عن أمونيا ، أمينات ، أحماض أمينية ، أحماض عضوية ، بالإضافة إلى السكاتول Skatole والمركبتان Marcaptane ، وغازات مثل CO_2, H_2S .

---

* راجع التخمر بواسطة بكتريا الكلوستريديا (تخمر البيوتريك - بيوتانول ، والكلوستريديا المحللة للبروتينات) ، بالباب الحادى عشر ، ص ٨٨٦ ومايليها .

من البكتريا المحللة للبروتين

١ - بكتريا هوائية عصوية متجرثمة مثل *Bacillus subtilis, B. mycoides* .
٢ - بكتريا هوائيـــة عصويـــة غـــير متجرثمـــة تشـــمل أجنـــاس *Arthrobacter, Proteus, Pseudomonas* .
٣ - بكتريا كروية مثل *Micrococcus, Sporosarcina* .
٤ - بكتريا لاهوائية متجرثمة مثل *Clostridium sporogenes* .
٥ - أكتينومايسيتات ، خاصة الأنواع التابعة لجنس *Streptomyces*

ومن الفطريات المحللة للبروتين

Alternaria, Aspergillus, Penicillium & Rhizopus

الدهـــون : Fats

الدهون مركبات عضوية ، تتكون من اســـترات أحمـــاض دهنيـــة (مثـــل أحمـــاض الاستياريك والبالمتيك) مع جلسرول ، ومعظم أنواع الدهون عبارة عن خليط مـــن جلســـريدات ثلاثية ، والدهون مواد غير قابلة للذوبان فى الماء ، ولكنها تذوب فى المذيبات العضوية ، مثـــل الاثير والأسيتون والكحول . وعلى درجة حرارة الغرفة فإن الدهون تكون صلبة ، أما إذا كانت سائلة فإنها تسمى زيتا ، ويعبر تعبير لبيدات * Lipids عن الدهون وأشباه الدهون .

تخزن الدهون بالأنسجة النباتية والحيوانية ، كما أنها تخزن بالخلايا الميكروبية علـــى شكل حبيبات Granules أو قطيرات Droplets .

وتشكل اللبيدات مكونات هامة بجدر الخلايا ، وبغشائها السيتوبلازمى .

تحلل الدهون

بعض المجهريات قادرة على تحليل الدهون ، واستخدامها كمصدر للطاقـــة ، كمـــا أن نواتج تحلل الدهون ، تعمل كمركبات وسطية فى دورات الأيض الغذائى بكل من دورة التحلـــل الجليكولى ودورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل .

ويبدأ تحلل الدهون (أو اللبيدات) ، بكسر رابطة الاستر الموجودة بالجلسريدات الثلاثية، وذلك بالتحلل المائى بانزيمات الليبيز Lipases ، لينتج أحماضا دهنية وجلسرول .

$$\begin{matrix} H_2C-COOR_1 \\ HC-COOR_2 \\ H_2C-COOR_3 \end{matrix} + 3H_2O \xrightarrow{\text{Lipase}} \begin{matrix} H_2COH \\ HCOH \\ H_2COH \end{matrix} + \begin{matrix} HCOO-R_1 \\ HCOO-R_2 \\ HCOO-R_3 \end{matrix}$$

جلسريد ثلاثى — جلسرول — أحماض دهنية

R : سلسلة هيدروكربون

* الليبدات Lipids ، عبارة عن مواد دهنية أو مواد شبيهة بالدهون .
ويشمل مصطلح لبيدات كل من الدهون والزيوت والشموع والاستيرولات والفوسفوليبيدات والجليكوليبـــدات ، وماشابه من مركبات .

نواتج تحلل الدهون

تتعرض نواتج تحلل الدهون الي التحولات التالية

* الجلسرول الناتج من تحلل الدهون ، يتحول الى داى هيدروكسى أسيتون فوسفات ، حسب المعادلة

$$\text{Glycerol} + \text{ATP} \xrightarrow[\text{Mg}^{2+}]{\text{Glycerol kinase}} \text{Glycerol -3- phosphate} + \text{ADP}$$

$$\text{Glycerol-3-phosphate} + \text{NAD}^{+} \xrightarrow[\text{Dehydrogenase}]{\text{Glycerol phosphate}} \text{Dihdroxyacetone phosphate} + \text{NADH}_2$$

داى هيدروكسى أسيتون فوسفات الناتج ، هو من المركبات الوسطية بدورة التحلل الجليكولى، لذلك فإنه يدخل فى مسار تلك الدورة ، ويتحول الى حامض بيروفيك ، ويستمر مسار الدورة .

* الأحماض الدهنية الناتجة من تحلل الدهون ، تتأكسد بنظام بيتا β-oxidation (أنظر ص ٩٦٠) لتعطى بالتتابع فى كل دورة تحلل ، مركب ذو ذرتى كربون ، فى صورة أسيتايل كو أ ، ويدخل هذا المركب فى مسار دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل .

* ذرات الايدروجين والالكترونات الناتجة من تحلل الأحماض الدهنية ، تدخل فى مسار السلسلة التنفسية بالخلية الميكروبية ، لتكون مركب ATP بنظام الفسفرة التأكسدية .

ويوضح الشكل [١٢ (٢) – ١٨] ، الشكل العام لتحلل الكربوهيدرات والبروتينات والليبدات والدهون ، وارتباط تلك العمليات ببعضها البعض .

الميكروبات المحللة للدهون

تقوم مجموعة كبيرة من الأحياء المجهرية ، منها البكتريا والفطريات ، بتحليل الدهون وتعرف هذه المجموعة من المجهريات ، بالكائنات المحللة للبيدات Lipolytic organisms ، وتتميز أفراد هذه المجموعة بقدرتها على إفراز إنزيم الليبيز ، الذى يحلل الدهون مائيا الى أحماض دهنية وجلسرول .

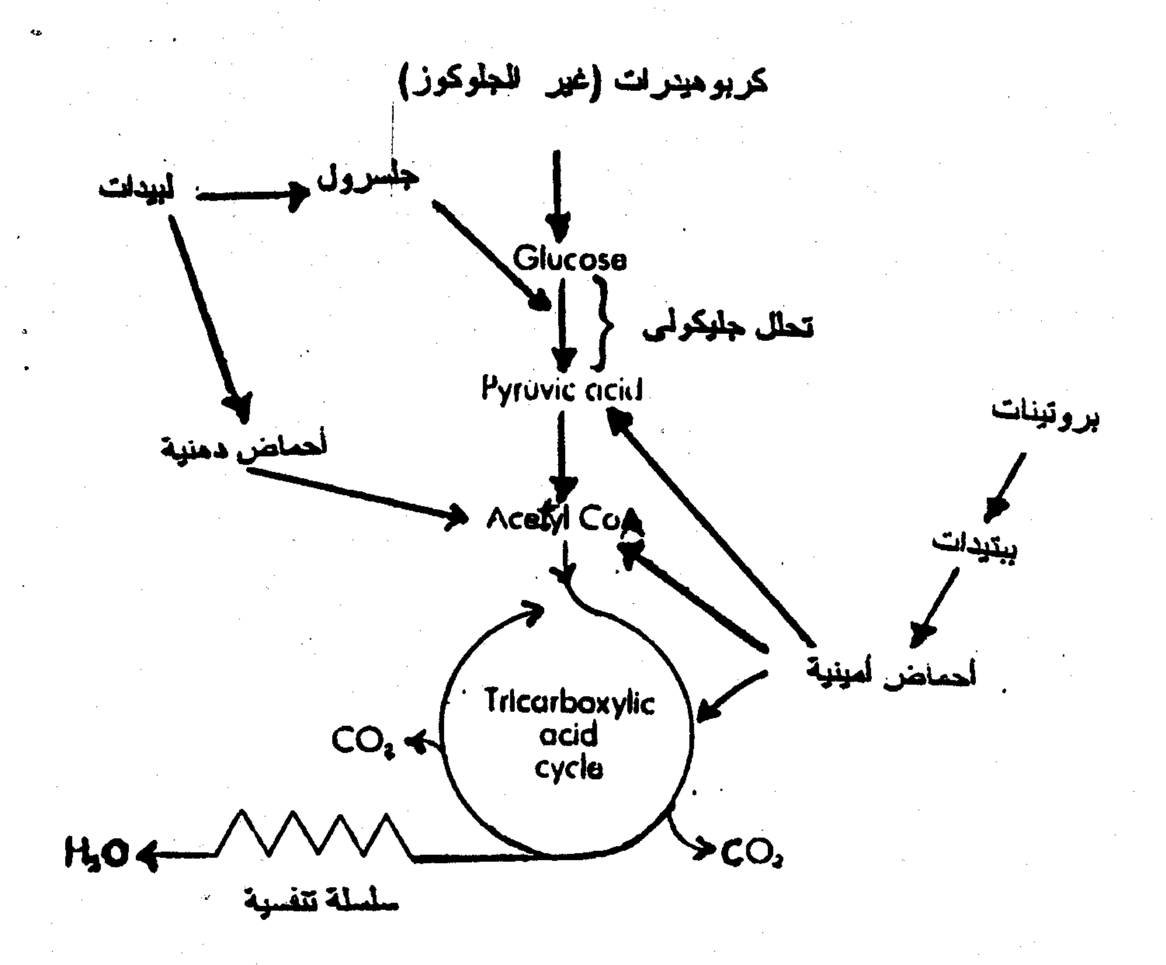
من البكتريا المحللة للدهون ، أنواع تابعة لأجناس .

Achromobacter , *Alcaligenes* , *Micrococcus* , *Pseudomonas* , *Serratia*

ومن الفطريات المحللة للدهون ، أنواع تابعة لأجناس

Aspergillus , *Cladosporium* , *Geotrichum* , *Monilia* , *Penicillium*

ويسبب تحلل الدهون بالأغذية ، حدوث حالة تزنخ Rancidity بالغذاء ، مظهرها حدوث تغير فى الطعم ، وظهور روائح غير مقبولة ، لتكون الدهيدات وأحماض مصاحبة لتحلل الدهون ومكونات الغذاء .



شكل ١٢ (٢) – ١٨ : تخطيط لتحلل الكربوهيدرات والليبدات والأحماض الأمينية

يلاحظ من الشكل : ١- يمثل اسيتايل كوأ مركب وسطى عام فى تمثيل الكربوهيدرات والليبدات .

٢- تمثل دورة TCA ، المسار العام لتأكسد الكربوهيدرات والليبدات والأحماض الأمينية

(الباب الثانى عشر - الفصل الثالث)
الميكروبات والصناعـــة

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة

المحتويات

﴿الباب الثانى عشر - الفصل الثالث﴾

الميكروبات والصناعة
Microbes and Industry

استثمار الأحياء المجهرية بواسطة الإنسان

منذ قديم الأزل ، والانسان يستفيد من وجود الأحياء المجهرية ، تلقائيا وبدون وعى منه ، فى إنتاج مواد نافعة له كالأغذية والمشروبات المتخمرة ، غير أنه بعد أن أوضحت دراسات لويس باستير فى النصف الثانى من القرن التاسع عشر ، دور الأحياء المجهرية فى الصناعات التخميرية ، بدأ الانسان بأستثمار الأحياء المجهرية ، على أسس علمية ، فى انتاج العديد من المواد ذات الأهمية الاقتصادية ، فيما يعرف الآن تحت مسمى الميكروبيولوجيا الصناعية * Industrial Microbiology ، والتكنولوجيا الحيوية ** Biotechnology .

فالأحياء المجهرية تحت الظروف المناسبة (من حيث السلالة المستخدمة ، وتركيب البيئة المستعملة ، وظروف التحضين) ، قادرة على انتاج مواد عديدة وبكميات كبيرة . فمن الأحياء المجهرية مايستخدم فى انتاج الأغذية ، وفى إعداد المنتجات الغذائية .

كما أن من المجهريات ماينتج مواداً كيميائية تستخدم فى الصناعة، كالمذيبات العضوية وغيرها إضافة إلى أن من الأحياء المجهرية مايستثمر فى إنتاج اللقاحات الحيوية ، التى تزيد من خصوبة التربة الزراعية ، أو التى تستعمل فى المكافحة الحيوية ضد الآفات ، وكذلك فى إنتاج اللقاحات الوقائية والكيميائيات والمضادات الحيوية ، لمعالجة أمراض النبات والحيوان والانسان .

---

* يقصد بالميكروبيولوجيا الصناعية Industrial microbiology ، استخدام الأحياء المجهرية تحت ظروف محكمة ، فى الانتاج التجارى لمواد نافعة ذات قيمة إقتصادية .

** ويقصد بالتكنولوجيا الحيوية Biotechnology ، بمفهومها الشامل ، جميع التقنيات الحديثة التى تتعامل مع الكائن الحى ، بدءا من مستوى الخلية المفردة ، الى مستوى التعامل مع الكائن الحى ككل .

ومن هذه التقنيات استخدام الميكروبات المعاد تكوينها وراثياً ، فيما يعرف بالهندسة الوراثية ، وانتاج المزارع النسيجية فى النبات ، والاستنساخ فى الحيوان .

استخدام الخمائر : The use of yeast

على الرغم من وجود الكثير من أنـــواع الخمـــائر فـــى الطبيعـــة ، إلا أن ســـلالات *Saccharomyces cerevisiae* ، هى التى تلعب الدور الهام فى كثير مـــن الصناعـــات ، مثـــل صناعة الخبيز ، وانتاج الكحول ، وعمل البيرة والنبيذ .

أن أول من أستخدم الخميرة كمادة رافعة فى الخبيز ، هم قدماء المصريون منذ حوالـــى سبعة ألاف عام ، ومن مصر إمتدت هذه التقنية الى بقية أنحاء العالم ، وعُرف انتاج الكحول فى الصين منذ ثلاثة آلاف عام ، وتطور إنتاج الكحول وتقطيره فى أوربا فى منتصف القرن الســـابع عشر ، وفى البداية كان استخدام الكحول ، للأستهلاك الآدمى ، وبتقدم الثورة الصناعيـــة ، زاد الطلب على الكحول كمذيب ، وفى الطب والمعامل ، وكمادة خام تدخل فى صناعات عديدة .

وجدول [١٢ (٣) - ١] يوضح أهم الاستخدامات المعروفة للخمائر .

جدول ١٢ (٣) - ١ : بعض المنتجات الهامة من الخميرة .

المنتج	الخميرة	المادة الخام	طبيعة التخمر	مجالات الاستعمال
كحول الإيثانول	*Saccharomyces cerevisiae*	المولاس	لاهوائى	مذيب ، وقود ، نواحى معملية ، وطبية
	Kluyveromyces fragilis	الشرش	لاهوائى	مذيب ، وقود ، نواحى معملية ، وطبية
مشروبات كحولية	*S. cerevisiae*	مولت الشعير	لاهوائى	البيرة
	S. cerevisiae	عصير العنب	لاهوائى	النبيذ
خميرة الخباز	*S. cerevisiae*	المولاس (*)	هوائى	الخبيـــز
	Candida milleri	المولاس (*)	هوائى	الخبز الفرنسى الحامضى
بروتين ميكروبى	*S. cerevisiae*	المولاس (*)	هوائى	خميرة علف للحيوان
	Candida utilis	المولاس ، مخلفات صناعة الورق	هوائى	تغذية حيوان وانسان
	Hansenula polymorpha	الميثانول	هوائى	تغذية حيوان وانسان
	Saccharomycopsis lipolytica	مخلفات البترول	هوائى	تغذية حيوان

* أو مواد كربوهيدراتية ، بعد تحللها إلى سكريات قابلة للتخمر

إنتاج كحول الإيثانول * : Ethanol production

من أهم استخدامات الخمائر ، هى إنتاج كحول الإيثانول من المواد الكربوهيدراتية ، كما تستخدم هذه العملية التخميرية فى إنتاج البيرة والنبيذ ، وفى كثير من العمليات الكيميائية .

وكحول الإيثانول يلى الماء كمذيب عام ، كما أنه يستخدم كمادة أولية فى المعامل والمصانع ، ويمكن تلخيص خطوات إنتاج الإيثانول تخميرياً فيما يلى

المادة الخام

يمكن انتاج الإيثانول من أى مادة كربوهيدراتية قابلة للتخمر بواسطة الخمائر . وإذا مااستخدمت مواد كربوهيدراتية معقدة كالنشا أو غيرها من المواد ، فإنه يجب أولاً تحليل هذه المواد مائياً ، إلى سكريات بسيطة قابلة للتخمر بواسطة الخميرة .

ويتم التحلل المائى بواسطة إنزيمات مولت الشعير أو الفطريات أو بالحرارة مع التحميض (اضافة الأحماض) . ومن المواد الخام المستخدمة فى التخمير مولاس القصب ، مولاس البنجر ، الذرة ، البطاطس ، العنب .

الخميرة المستخدمة

تستخدم سلالات منتخبة من خميرة *Saccharomyces cerevisiae* ، ويجب أن تتميز السلالة المستخدمة بغزارة نموها ، وتحملها لتركيزات عالية من الكحول ، وبقدرتها على إنتاج كميات كبيرة من الإيثانول .

وتقوم الخميرة بالتفاعل الآتى

$$C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{إنزيمات الخميرة}} \underset{\text{إيثانول}}{2\,C_2H_5\text{-}OH} + 2CO_2$$

الانتـــاج

يستعمل المولاس بكثرة ، كمصدر كربونى ، لانتاج الكحول ، ويحتوى المولاس العادى Black strap molasses ، على حوالى ٥٠% سكروز ، وله ق يد حوالى ٦,٥ ، غير أنه فقير فى المواد النتروجينية والفوسفورية . ولذلك ، فعند استعمال المولاس العادى كماش ** ، فإنه يجب أن يعدل تركيبه ، ليعطى البيئة المناسبة لنمو الخميرة ، فتخفف نسبة السكر به ، إلى أن تصل لحوالى ١٠% ، ويخفض الـ ق يد إلى حوالى ٤,٥ ، وهى درجة حموضة مناسبة لنمو الخميرة ، وغير مناسبة لنمو البكتريا الملوثة . ويضاف للمولاس مواد مغذية (نتروجين وفوسفور) بنسبة ٠,٢ – ٠,٤% ، فى صورة كبريتات أمونيوم ، أو فوسفات أمونيوم ، أو يوريا ، أو من أى مصدر نتروجينى آخر مناسب .

---

* راجع تخمرات ذات طابع خاص ، التخمر الكحولى ، الباب الحادى عشر ، ص ٨٦٨ ومايليها .

** ماش Mash

يقصد بالماش (وقد يسمى أيضاً بالمريس أو المهروس) ، بيئة التخمير النهائية التى تم إعدادها ، التى تحتوى على المواد اللازمة للميكروب المستخدم ، ليكون منها منتجات التخمير المطلوبة .

تلقح البيئة بسلالة الخميرة المنتخبة ، والتى سبق تنشيطها ، ويتم التخمير فى وسط لاهوائى ، وهذا يتوفر من غاز ثانى أكسيد الكربون المتكون أثناء التخمير .

وفى حالة التخمير المتقطع ، يتم الانتاج بعد ٤٨ ساعة على حوالى ٢٥°م .

وفى نهاية التخمر ، يتحول حوالى ٩٠% من سكر البيئة إلى كحول ايثانول وغاز CO_2 ، أما باقى السكر ، فيستهلك كغذاء للخميرة ، وفى إنتاج بعض النواتج الثانوية الأخرى .

ويتحصل على الكحول ، بتقطير السائل المتخمر ، ويمثل الكحول حوالى ٤٨% من النواتج النهائية .

غاز ثانى أكسيد الكربون الناتج من التخمير ، وهو يمثل حوالى ٤٧% من النواتج ، يجمع ، وينقى ، ويضغط فى أسطوانات ، ليستعمل فى صناعة المياه الغازية ، وبطفايات الحريق ، أو يحول إلى ثلج جاف ، يستخدم فى عمليات التجميد .

النواتج الثانوية للتخمر الكحولى

بالإضافة إلى كحول الإيثانول وثانى أكسيد الكربون ، وهما يمثلان حوالى ٩٥% من النواتج ، فإنه ينتج أيضاً ، كميات قليلة من الجلسرول (حوالى ٣%) ، وحامض السكسنيك واللاكتيك (حوالى ١%) ، مع كميات قليلة من كحول الأمايل ، والأيسو أمايل ، وآثار من الكحولات العالية الأخرى ، ويطلق على هذا الخليط من الكحولات اسم زيت الكحول Fusel oil، وهو يمثل حوالى ١,٠% من النواتج ، ويستعمل فى البويات . وينتج زيت الكحول ، كنواتج ثانوية ، من تأثير الخميرة على بعض الأحماض الأمينية ، الموجودة بالبيئة ، كالليوسين ، والأيسوليوسين ، والفالين .

عمل البيرة : Brewing

الانتاج والخميرة المستخدمة

تصنع البيرة Bear من الحبوب النشوية ، مثل الشعير فى أوروبا والشرق الأوسط ، والأرز فى الشرق الأقصى ، والذرة فى أمريكا . ونظراً لأن الخميرة لاتستطيع القيام بعملية تسكير النشا Saccharification ، أى تحويل النشا لسكريات قابلة للتخمر ، لعدم إحتواء الخميرة على إنزيمات الأميليز ، فإن نشا الحبوب ، يجب أن يحول لسكريات قابلة للتخمر (الجلوكوز ، المالتوز ، الدكسترين) ، بالتحليل المائى ، قبل إجراء عملية التخمير بواسطة الخميرة .

ولكل نوع من الحبوب المستعملة ، الطريقة المناسبة لتسكيره ، ففى حالة الشعير ، تتم عملية التسكير بواسطة الأميليز ، الذى يتكون بحبوب الشعير النابتة ، بعد نقعها فى الماء لمدة ٢-٣ يوم ، لأن الحبوب النابتة ، وليست الحبوب الجافة ، هى التى تحتوى على كميات كبيرة من إنزيمات الأميليز والبروتييز والجلوكاينيز . ويجفف الشعير النابت ، على درجة حرارة ورطوبة مناسبة ، ثم يطحن . ويسمى الناتج بمولت الشعير Barley malt .

يعتبر المولت ، المصدر الرئيسى للنشا ، والمواد العضوية النتروجينية ، والإنزيمات ، وتجرى عملية إذابة المولت Malting ، بخلطه بالماء الساخن ، مع رفع درجة الحرارة تدريجياً الى ٧٥°م ، وقد يضاف فى هذه العملية ، بعض المحاليل النشوية .

فى عملة الإذابة ، يتم تسكير النشا ، كما تتحلل البروتينات ، إلى أحمـــاض أمينيـــة ، ومواد نتروجينية ذائبة ، وبذلك يتوفر للخميرة ، المصـــادر اللازمـــة لنموهـــا مـــن كربـــون ، ونتروجين .

يرشح المولت الذائب ، والراشح الناتج ، يسمى وارت البـــيرة Beer wort . ويغلـــى الوارت مع حشيشة الدينار *Hops . وعملية الغليان ، توقف عمل إنزيمات المولـــت ، وتسبب تعقيماً جزئياً للسائل ، كما أنها تساعد على إستخلاص بعض المواد من حشيشة الدينـــار ، التـــى تكسب البيرة الطعم ، والنكهة المطلوبة ، وتساعد على الحفظ .

يرشح الوارت ، للتخلص من حشيشة الدينار ، ثم يبرد الراشح ، ويلقح بسلالة الخمـــيرة المنتخبة *Saccharomyces cerevisiae* (Brewer's yeast) ، والتى سبق تنشيطها . والخمـــيرة المستعملة كلقاح ، قد تكون من الأنواع السطحية Top yeast ، أو من الأنواع القاعيـــة Bottom yeast ، وذلك حسب نوع البيرة المطلوب إنتاجها .

الخميرة السطحية توجد على سطح البيئة ، لأن ثانى أكسيد الكربون المتكون بغـــزارة أثناء التخمير ، يرفعها لأعلى السطح ، وتحتاج هذه الخميرة ، لدرجـــة حـــرارة أعلـــى (٢٠°م) للتخمير ، وهى نشطة فى التخمير ، وتنتج بيرة ذات نسبة كحول منخفضة ، مثل بـــيرة الإيـــل Ale .

أما الخميرة القاعية ، فإنها توجد فى قاع السائل المتخمر ، لقلة ثانى أكســـيد الكربـــون المنتج أثناء التخمير ، وتحتاج هذه الخميرة ، لدرجة حرارة أقل للتخمـــير (٥-١٢°م) ، وهـــى بطيئة فى التخمير ، وتنتج بيرة ذات نسبة كحول مرتفعة ، مثل بيرة اللاجر Lager .

وتتم عملية التخمير ، لاهوائيا ، فى عدة أيام ، وأثناء هذه الفترة ، يتم تحول الســـكر ، إلى كحول وثانى أكسيد كربون ، وقد يعقب ذلك تخمير ثانوى للإنضاج ، على درجـــة حـــرارة منخفضة (صفر الى ٤°م) لعدة شهور . بعد ذلك تروق البيرة ، وترشح ، وتعبأ ، وقد تبســـتر على ٦٠°م لمدة ٣٠ دقيقة ، وتحفظ على درجة حرارة منخفضة ، لحين الإستهلاك .

وتحتوى البيرة (نوع Ale) ، على حوالى ٥% كحول ، ٠,٥% CO_2 ، وتمتاز البـــيرة الجيدة بشفافيتها .

فساد البيـــرة

تفسد البيرة ، بسبب نمو الخمائر الوحشيه (المُلوِّثه) Wild yeast ، ونشاط البكتريا غير المرغوب فيها ، كبكتريا حامض الخليك ، واللاكتيك ، و *Pediococcus* ، فيحـــدث تعكـــير ، ومرارة ، وروائح غير مرغوبة بالبيرة .

تموت أغلب الميكروبات المفسدة ، عند غليان الوارت مع حشيشة الدينـــار ، لذلـــك ، يمكن تجنب فساد البيرة ، بمراعاة عدم التلوث ، عقب غليان الوارت ، وأثناء عمليات التصنيـــع التالية ، مع استخدام سلالات الخميرة ، النشطة النقية للتخمير ، والبسترة عقب التعبئة .

---

* حشيشة الدينار Hops، *Humulus lupulus*

نبات عشبى متسلق ، تؤخذ منه الأزهار المؤنثة وتجفف وتضاف الى وارت البيرة ، للإستفادة مما تحتويه من مواد راتنجية ومواد مرة عطرية .

عمل النبيذ : Wine making

النبيذ هو ناتج تخمر كحولي للعنب أو لعصير العنب ، بواسطة الخميرة ، ويعقب ذلك عملية تعتيق للمنتج ، ليكتسب الطعم والمذاق المطلوب .

الخميرة المستخدمة فى الانتاج

تشمل عملية إعداد النبيذ ، تخمير السكريات الذائبة (جلوكوز ، فركتوز) ، الموجودة فى عصير العنب ، وتحويلها إلى كحول إيثانول . ففى التوقيت المناسب ، يتم جمع العنب من الحقل وعصره ، بحيث يحتوى على ١٠-١٥% سكر ، وتقوم الخمائر الموجودة طبيعيا على حبات العنب ، بدور اللقاح فى كثير من دول العالم .

أثناء عملية التخمر الطبيعى لعصير العنب ، تحدث تغيرات متعاقبة بالعصير ، وفى المراحل الأخيرة من التخمر تسود خميرة *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* والتى يطلق عليها خميرة النبيذ ، وفى بعض البلاد ، مثل كاليفورنيا ، يعامل مهروس العنب Must قبل تخميره ، بثانى أكسيد الكبريت (الناتج من مسحوق بوتاسيوم ميتا بايسلفيت) ، وذلك للتخلص من الخمائر الموجودة طبيعيا مع العنب ، ثم يعاد تلقيح مهروس العنب بخميرة النبيذ ، ويترك الخليط حتى يتم التخمر المطلوب ، فى فترة تبلغ عدة أيام .

التخمر

أثناء التخمر ، يراعى التحكم فى درجة الحرارة عن طريق التبريد ، وذلك لمنع إرتفاع الحرارة عن ٣٠°م ، حتى لايحدث قتل لخلايا الخميرة ، وقلة فى كمية النبيذ المنتجة .

مهروس العنب ينتج نبيذا أبيض اللون ، ولاينتج النبيذ الأحمر ، إلا من الأعناب الحمراء التى تخمر بقشرتها Skin ، لأن الصبغة الحمراء مركزة فى قشرة العنب ، حيث يقوم الكحول الناتج من التخمر باستخلاص اللون الأحمر من قشور العنب .

وتستغرق عملية التخمر نحو ٣ الى ٥ أيام بالنسبة للنبيذ الأحمر ، بينما تستغرق حوالى ٧ إلى ١٤ يوما بالنسبة للنبيذ الأبيض . وبعد إنتهاء عملية التخمر ، تتم عملية الترويق ، والتعبئة ، والتخزين . ويتم التخزين تحت ظروف لاهوائية ، على درجة حوالى ١٨°م ، لفترات طويلة تتراوح من شهور الى عدة سنوات ، وذلك تبعا لنوع الناتج النهائى المطلوب .

التعتيق

تعرف عملية التخزين ، بعملية التعتيق Aging ، ويتم تعتيق أكثر الأنواع المعروفة ، خاصة النبيذ الأحمر ، خلال العام الأول من الإنتاج . وأثناء فترة تعتيق النبيذ ، يحدث به تخمرا ثانويا ذاتيا Secondary spontaneous fermentation ، ماليكى - لاكتيكى Malo-lactic fermentation ، تسببه بكتريا حامض اللاكتيك التابعة لأجناس *Lactobacillus, Leuconostoc & Pediococcus* ، حيث تقوم هذه البكتريا بتحويل حامض الماليك الموجود فى عصير العنب ، إلى ثانى أكسيد كربون وحامض لاكتيك ، وبالتالى يتحول حامض الماليك الثنائى الكربوكسيل ، إلى حامض لاكتيك أحادى الكربوكسيل ، مما يقلل من حموضة النبيذ ، وهذا التحول الحيوى مرغوب فيه ، فى أنواع النبيذ الأحمر ، حلوة المذاق ، كما يتم أثناء عملية التعتيق تكون نكهة طيبة ومذاقا مقبولا ، لتكون بعض الأسترات والألدهيدات والمواد الطيارة .

الشمبانيـــا

يتم إجراء تخمرات إضافية لبعض أنواع النبيذ ، وذلك لإنتاج نبيذ فـــوار Sparkling wine ، يعرف بالشمبانيا Champagne (نسبة إلى مقاطعة شمبانيا بفرنسا) ، حيـــث يُعـــرَّض النبيذ المعبأ فى الزجاجات أو فى البراميل ، لمرحلة ثانية من التخمر ، تحت ضغـــط خفيـــف ، وذلك نتيجة زيادة كمية السكر المضاف .

ويتميز النبيذ الناتج بإحتوائه على نسبة مرتفعة من غاز ثانى أكسيد الكربون ، وقد يتم دفع CO_2 صناعيا فى زجاجات الشمبانيا رخيصة الثمن .

ويقوم بعملية التخمير الثانوى سلالات خاصة من خمـــيرة النبيـــذ *Saccharomyces ellipsoideus* ، والتى تتميز بتحملها لنسبة مرتفعة من غاز ثانى أكسيد الكربون .

النبيذ الحلو : Sweet wine

هناك نوع من النبيذ يعرف بالنبيذ الحلو ، يوجد فى بعض الدول الأوروبية ، خاصـــة فرنسا ، وينتج هذا النبيذ بعدوى تلقائية للعنب وهو بالحقل قبل جمعه ، بفطر *Botrytis cinerea* وتؤدى إصابة العنب بالفطر ، إلى فقد العنب لكمية من الماء الموجودة به وبالتالى إلـــى زيـــادة نسبة السكر به ، كما تسبب الاصابة الفطرية تحلل حامض الماليك ، مما يخفض مـــن درجـــة حموضة العصير ، كما تحدث بعض التغيرات فى النكهة والرائحة . كما تعود زيادة نسبة السكر والطعم الحلو فى هذا النبيذ ، إلى أن الخميرة المخمرة من النوع المحب للجلوكوز Glycophilic yeast التى تخمر الجلوكوز سريعا ، تاركة الفركتوز ، مما يعطى للنبيذ الناتج الطعم الحلو .

فساد النبيـــذ

على الرغم من أن النبيذ ذو درجة حموضة مرتفعة (ق يـــد حوالـــى ٣) ، وذو نســـبة كحول مرتفعة (تتراوح من ٧,٠% الى ٢٠,٠% حسب النوع) ، مما يجعله غير مناســـب لنمـــو كثير من المجهريات المفسدة ، إلا أن النبيذ قد يفسد أحيانا ، وذلك عند تعرضه للهواء ، حيـــث تنمو الخمائر الغشائية (تؤكسد الكحول والأحماض العضوية) ، مسببة عكارة . كمـــا قـــد تنمـــو بكتريا حامض الخليك (تحول الكحول الى حامض خليك) ، مسببة الطعـــم الحـــامضى الـــلاذع Sour taste .

وتحت الظروف اللاهوائية قد تنمو بكتريا حامض اللاكتيك العصوية على بقايا الســـكر المتبقى بالنبيذ ، مسببة للنبيذ طعما غير مقبول يعرف بالطعم الفيرانى Mousy taste .

ويمكن منع فساد النبيذ بالبسترة أو بالترشيح أو بإضافة مواد كيميائية مثل SO_2 .

ويوضح الجدول التالى [١٢ (٣) – ٢] دور بعض البكتريا والخمائر فى إنتـــاج أو فـــى فســـاد النبيذ .

جدول ١٢ (٣) - ٢ : بعض الخمائر والبكتريا التى لها دور فى انتاج النبيذ أو فى فساده

الكائن المجهرى	دور الكائن المجهرى فى انتاج النبيذ أو فى فساده	التغيرات الكيميائية التى تحدث
فطــر *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*	• تخمر أولى لانتاج الكحول • تخمر ثانوى لانتـاج CO_2 فـى النبيذ الفوار (الشمبانيا) • عكارة النبيذ الحلو	
بكتريـا *Lactobacillus*, *Leuconostoc* *Pediococcus*	• تخمر ماليكى - لاكتيكى • إعطاء نكهة	ماليك ← لاكتيك + CO_2
فطــر *Botrytis cinerea*	• تنمو كطبقة سطحية مكونة غشاء • تعطى نكهة ولون • انتاج النبيذ الحلو	ماليك ← $H_2O + CO_2$
خمائــر غشائيــــة	فساد النبيذ بتعرضة للهواء	
بكتريا حامض خليك	فساد النبيذ ، الطعم الحامضى	إيثانول ← أستيك
بكتريا حامض لاكتيك	• فساد النبيذ تحت ظروف لاهوائية • انتاج نكهة غير مقبولة (الطعم الفيرانى Mousy taste)	

خميرة الخباز : Baker's yeast

يستعمل في المخابز ، مزارع نقية ، لسلالات منتخبة ، من خميرة الخباز (Baker's yeast) *Saccharomyces cerevisiae* . وتمتاز هذه السلالات بثبات صفاتها ، وسرعتها نموها ، وقدرتها العالية ، على تحليل سكريات العجين .

تخلط الخميرة مع العجين وتترك لعدة ساعات في مكان دافىء ، لإحداث التغيرات المطلوبة ، في القوام والطعم ، بالخبز الناتج ، ويسبب غاز ثاني أكسيد الكربون المتصاعد أثناء التخمر ، رفع العجين Leavening, rising of dough .

ويتوقف نوع الخبز الناتج ، على صفات سلالة الخميرة المستعملة ، وعلى ظروف التحضين ، والمادة الخام المستعملة للتخمير .

إنتاج خميرة الخباز

لإنتاج الخميرة [شكل ١٢ (٣) – ١] ، تلقح سلالة الخميرة المطلوبة بعد تنشيطها ، في بيئة التخمير ، التي قد تكون مولاس القصب ، أو البنجر ، أو أي مادة كربوهيدراتية تم تسكيرها ، وعند استعمال المولاس ، تخفف نسبة السكر به ، إلى حوالي ٨,٠% ، ويضبط الـ pH عند 4.5 ، مع إضافة نتروجين بنسبة ٠,٢ – ٠,٤% وفوسفور بنسبة ٠,١ – ٠,٣ % من البيئة ، وذلك من مصادر مناسبة .

يتم التخمير على درجة ٣٠°م ، وفي وسط هوائي ، وعملية التهوية والتقليب ضرورية في عملية إكثار الخميرة ، لمنع حدوث تخمر لاهوائي .

وبعد إنتهاء فترة التخمير التي تأخذ حوالي ١٠ ساعات ، تجمع خلايا الخميرة المتكونة بالطرد المركزي ، وتغسل بالماء ، ويعاد الطرد المركزي والغسيل ، ثم يجرى الترشيح من خلال مكابس Filter press أو أسطوانات * Filter drums . وتشكل الخميرة الحية المنتجة ، في قوالب أو أقراص ، وتحفظ على درجة حرارة منخفضة (صفر الى ٥°م) لحين الإستعمال، للمحافظة على حيويتها ، ومنع فسادها .

وينتج كل ٥٠٠ لتر بيئة ، حوالي ١٠,٠ كجم خميرة .

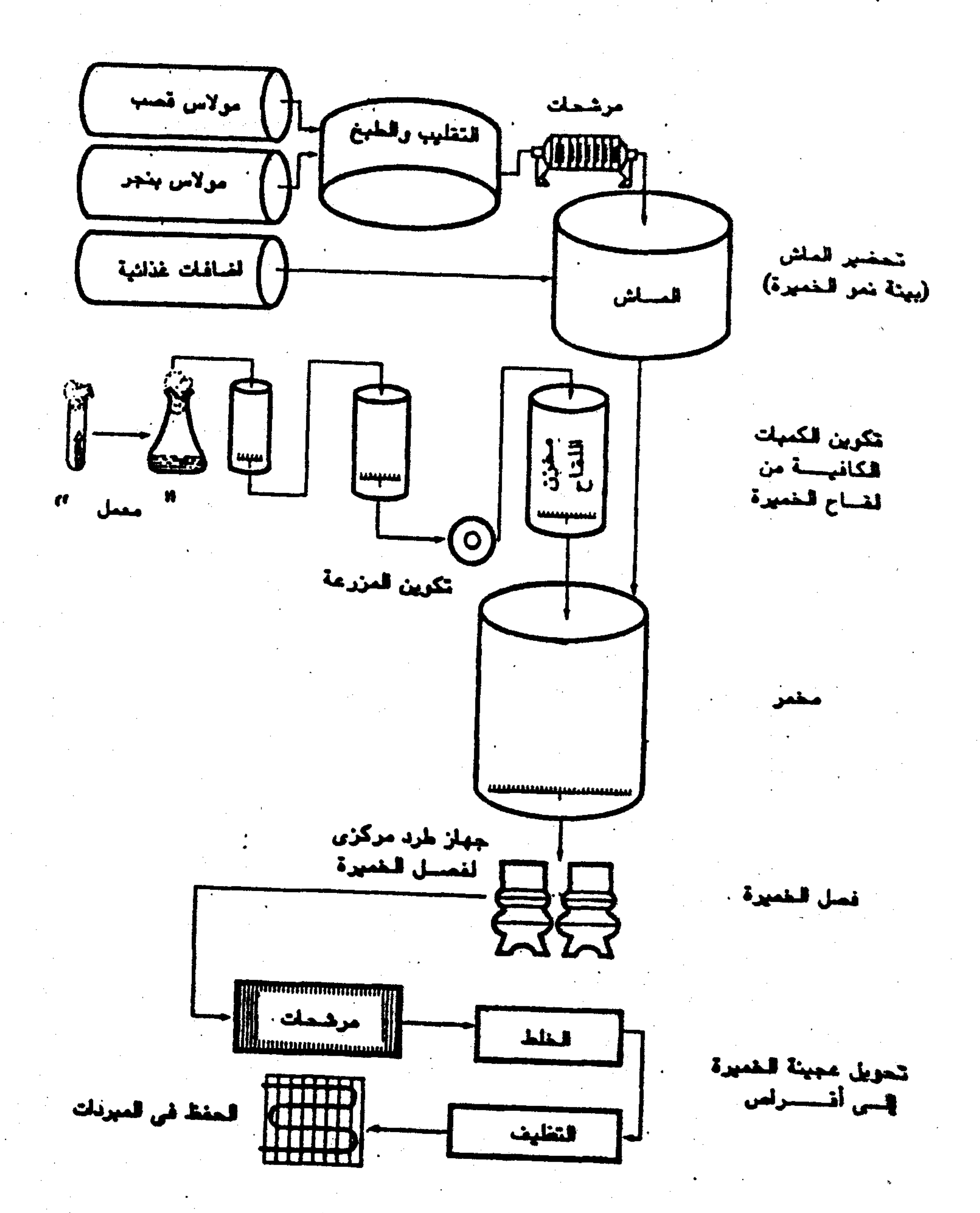
وتستخدم المخابز الكبرى الحديثة عدة مئات من الأطنان من الخميرة المضغوطة يومياً، حيث يحتاج كل ٣٠٠ طن دقيق لحوالي ٥,٠ طن خميرة مضغوطة .

البروتين وحيد الخلية ، البروتين الميكروبي : Single-cell protein, SCP

تتميز الأحياء المجهرية بمحتواها العالي من البروتين ، وبسرعة نموها في البيئة ، وبقدرتها على تمثيل المواد العضوية رخيصة الثمن ، وكمثال على سرعة الإنتاج ، فإنه عند مقارنة البروتين الناتج من الثور البقري المخصي Bullock بما تنتجه الخميرة ، نجد أن الثور الذي يزن ٥٠٠ كجم ، ينتج حوالي نصف كجم بروتين في ٢٤ ساعة ، بينما تنتج ٥٠٠ كجم من

* عبارة عن أسطوانة مفرغة الهواء ، عليها شبكة دقيقة من الصلب ، مغطاة بطبقة من نشا البطاطس ، وبدوران الأسطوانة ، في الأحواض التي بها كريمة الخميرة Cream yeast ، تغلف الاسطوانة بالخميرة ، التي تترشح ، ثم تكشط الخميرة بسكين ، وتجمع .

الخميرة ، حوالى ٥٠ ألف كجم بروتين فى نفس الفترة الزمنية ، لذلك إتجهت الأنظار إلى استخدام هذه الكائنات كبديل للبروتين الحيوانى .



شكل ١٢ (٣) - ١ : خطوات الإنتاج التجارى لخميرة الخباز

من الأحياء المجهرية المستخدمة لانتاج البروتين ، الخمائر والبكتريا والطحالب ، التى يُجرى لها عملية إكثار على بعض المخلفات الغذائية أو الصناعية ، وبالطرد المركزى والتجفيف ، نحصل على منتج غنى فى البروتين من تلك الخلايا الميكروبية ، يسمى بروتين وحيد الخلية Single-cell protein, SCP .

ويفضل استخدم الخمائر فى انتاج البروتين عن غيرها من الأحياء الدقيقة ، لأن الخميرة تستعمل منذ آلاف السنين كغذاء وفى عمل النبيذ ، دون أن تسبب للمستهلك أضرارا صحية ، عكس غيرها من المجهريات التى قد تنتج بعض المواد الضارة ، التى تقلل من قيمة البروتين الناتج ، أو تضر بالمستهلك .

الخمائر المستخدمة فى إنتاج البروتين الميكروبى عديدة [جدول ١٢ (٣) - ١] ، ومن أهمها *Saccharomyces cerevisiae & Candida utilis* ، وتصل نسبة البروتين بها الى حوالى ٥٠% ، وتستعمل كمصدر للبروتين والفيتامينات ، سواء فى التغذية أو فى المستحضرات الطبية .

وتُنتج خمائر التغذية ، بطريقة مشابهة لانتاج خميرة الخباز ، على أن يجفف الناتج الى مسحوق، على درجة حرارة عالية نوعا لقتل خلايا الخميرة ، فالخميرة الحية لاتصلح للتغذية ، لقيامها بتحليل السكريات ، وانتاج غاز CO_2 ، مما يسبب إرتباكات معوية .

من المخلفات المستخدمة فى إنتاج البروتين الميكروبى : المولاس وشرش الجبن وسائل منقوع الذرة ، وهى نواتج ثانوية لمصانع الأغذية ، وكذلك مخلفات مصانع الورق والأخشاب ، وهى نواتج صناعية ، وأيضا هيدروكربونات البترول ، كمخلفات من حقول انتاج النفط وأماكن تكريره .

يستعمل بروتين وحيد الخلية ، فى سد الاحتياجات الغذائية للانسان والحيوان ، كوسيلة لسد الفجوة الغذائية البروتينية ، وتضاف الخميرة بنجاح لعلائق الحيوان والدواجن كخميرة علف Fodder yeast .

ويتميز بروتين الخميرة بمحتواه العالى من بعض الأحماض الأمينية كاللايسين والتربتوفان والثرايونين ، مقارنة ببروتين القمح (منخفض فى اللايسين) ، وبروتين الذرة (منخفض فى اللايسين والتربتوفان) ، وبروتين الأرز (منخفض فى اللايسين والثرايونين) .

وفى المقابل ، فإن بروتين الخميرة يتميز بنقصه فى الأحماض الأمينية الكبريتية كالسستين والسستئين والمثيونين ، مقارنة ببروتين الحيوان والأسماك ويعوض النقص فى هذه الأحماض ، بإضافة بعض البروتينات الحيوانية الأخرى ، مثل مسحوق السمك المجفف . إلى علف الخميرة

ويعاب على البروتين الميكروبى أيضا ، إحتوائه على نسبة مرتفعة من الأحماض النووية ، التى تسبب للمستهلك متاعب صحية وحصوات فى الكلى . وتبلغ الكمية التى يمكن للإنسان أن يتناولها من الأحماض النووية يوميا ، دون حدوث مشاكل صحية له ، حوالى ٢ جرام ، وهذه الكمية توجد عادة فى ٢٠-٣٠ جم من الخميرة الجافة .

ويوضح الجدول التالى [١٢ (٣) - ٣] ، متوسط التركيب العام للخمائر المختلفة ، النامية على مواد خام مختلفة .

جدول ١٢ (٣) - ٣ : التركيب الكيميائى لأنواع من الخمائر الناتجة من بيئات مختلفة .

نوع الخميرة النامية	البيئة المستخدمة	التركيب الكيميائى للخميرة جرام/١٠٠ جرام وزن جاف		
		بروتين	لبيدات	ماء
S. cerevisiae	من صناعة البيرة	٤٥	٦	٨
S. cerevisiae	مولاس	٥٠	٦	٧
S. fragilis	شـــرش	٥٤	١	٩
Candida utilis	مخلفات صناعة الورق	٥٥	٥	٨

Ref.

Stanier R.Y.; E.A. Adelberg and J.L. Ingraham (1976). Microbial World, Prentice- Hall Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, USA.

إنتاج الخمائر من البترول

تعتبر المشتقات البترولية مصدرا رخيصا لانتاج البروتين بواسطة الخمائر ، وقد بدأت محاولات الانتاج عام ١٩٥٩ بمعرفة شركات البترول البريطانية ، وتمت أول عملية إنتاج بنجاح ، عام ١٩٦٣ .

من المواد والمخلفات البترولية التى يمكن استخدامها لانتاج البروتين ، خام البترول ، زيت البترول ، الجازولين ، الكيروسين ، الألكانات n-alkanes ، وزيت النفت Gasoil ، وزيت النفت هو أحد مشتقات البترول السائلة التى تقع بين الديزل وزيت التشحيم ، ويحتوى زيت النفت على ١٠-٢٥% الكانات ذات ١٠-١٨ ذرة كربون ، ويفضل فى تنمية الخمائر استخدام الألكانات لسهولة تنمية الخمائر عليها ، وسهولة فصل الخمائر منها .

بعد التنمية ، تفصل الخمائر بالطرد المركزى البطىء السرعة ، ثم تغسل الخلايا المفصولة وتعامل بمذيبات لإزالة بقايا الهيدروكربونات والليبيدات تماما ، وذلك للحصول على منتج بروتينى جيد .

يحتوى المنتج النهائى للخمائر المنماه على الألكانات أو زيت النفت ، على حوالى ٦٠% بروتين ، ٢-١٠% لبيدات ، والبروتين الناتج مناسب لتغذية الحيوان ، وأقل ملاءمة لتغذية الدواجن ، ولايصلح للاستهلاك الآدمى لاحتوائه على نسب عالية من الأحماض النووية تزيد عن ٧% .

استخدامات البكتريا* : Uses of bacteria

تستخدم البكتريا على النطاق الصناعى ، لإنتاج مواد كيميائية هامة [جدول ١٢ (٣) – ٤] .

وفى انتاج بعض الأحماض العضوية والأمينية والفيتامينات [جدول ١٢ (٣) – ٥] .

وكذلك فى إنتاج بعض الإنزيمات ، والمبيدات الحيوية للحشرات [جدول ١٢ (٣) – ٦] ، هذا إضافة الى استخدام بعض أنواع البكتريا لإنتاج المضادات الحيوية .

جدول ١٢ (٣) – ٤ : بعض الكيميائيات الهامة (بخلاف المضادات الحيوية) ، المنتجة بواسطة البكتريا .

المنتج	البكتريا المستخدمة	المادة الخام	طبيعة التخمر	مجالات الإستعمال
أسيتون – بيوتانول	*Cl. acetobutylicum*	كربوهيدرات	لاهوائى	مذيب ، كيميائيات
٢,٣ بيوتان – ديول	*B. polymyxa* *Enterobacter aerogenes*	كربوهيدرات	هوائى	مذيب ، كيميائيات
داى أسيتايل	*Leuconostoc citrovorum*	مخلفات الألبان مع سترات	لاهوائى	مكسبات طعم
دكستران	*Leuconostoc mesenteroides*	كربوهيدرات	لاهوائى	مثبتات فى الأغذية ، بديل بلازما الدم ، انتاج السيفادكس Sephadex (انظر ص ١٠٠١ و ١٠٠٢)
سوربوز	*Gluconobacter suboxydans* (*Acetobacter suboxydans*)	مستخلص خميرة مع جلوكوز ، جليسرول ، سوربيتول	هوائى	صناعة حامض الأسكوربيك (فيتامين جـ)

* راجع تخمرات ذات طابع خاص ، التخمر اللاكتيكى ، التخمر البروبيونيكى ، التخمر بواسطة الكلوستريديا ، بالباب الحادى عشر ، ص ٨٧١ ومايليها .

جدول ١٢ (٣) – ٥ : بعض الأحماض العضوية والأمينية والفيتامينات ، المنتجة بواسطة البكتريا

المنتج	البكتريا المستخدمة	المادة الخام	طبيعة التخمر	مجالات الإستعمال
خليك ، الخل	*Acetobacter* sp.	محاليل كحولية	هوائى ، أكسدة	منتجات غذائية ، كيميائيات
لاكتيك	*Lactobacillus delbrueckii* *L. bulgaricus*	مواد سكرية ، الشرش	لاهوائى	منتجات غذائية ، كيميائيات ، المنسوجات
جلوتاميك	*Brevibacterium* sp.	كربوهيدرات ، ببتون ، بيوتين ، أملاح معدنية	هوائى	إضافات للأغذية
لايسين	*Micrococcus glutamicus*	جليسرول ، سائل منقوع الذرة ، نتروجين معدنى	هوائى	إضافات للأغذية
كوبالامين (فيتامين ب١٢)	*Propionibacterium freudenreichii*	مواد سكرية ونتروجينية	هوائى	إضافات للأغذية ، نواحى طبية
	Streptomyces olivaceus	سائل منقوع الذرة	هوائى	إضافات للأغذية ، نواحى طبية

جدول ١٢ (٣) – ٦ : بعض المنتجات الحيوية الهامة المنتجة بواسطة البكتريا

المنتج	البكتريا المستخدمة	مجالات الإستعمال
إنزيمات		
أميليز بكتيرى	*B. subtilis*	تحليل النشا ، النسيج ، الورق
بروتييز بكتيرى	*B. subtilis*	تسوية اللحم ، دبغ الجلود ، الألياف ، إزالة البقع
إستربتوكاينيز	*Streptococcus equisimilis*	استعمالات طبية لإذابة الجلطة
مبيدات		
مبيدات حيوية للآفات	*B. thuringiensis* *B. popilliae* *B. sphaericus*	مقاومة يرقات الحشرات خاصة حرشفية الأجنحة مقاومة البعوض

إنتاج الخـل : Vinegar production

كلمة خل Vinegar مشتقة من الكلمة الفرنسية Vinaigre ، التى تعنى نبيذ حـامضى ، والخل ، (وهو المنتج التجارى من حامض الأستيك) ، عبارة عن حامض خليكى (أستيك) ، بـه مواد أخرى متنوعة ، كالإسترات ، والجلسرول ، والزيوت الطيارة ، التى تتكون أثناء التخمـر ، وتكسبه الطعم الخاص .

ويوجد أنواع متعددة من الخل ، يعود الإختلاف بينها أساسا ، إلى نوع المادة المستعملة فى إنتاج الكحول ، والتى منها : عصير الفواكه ، النبيذ ، الشربات ، السوائل السكرية ، والمواد النشـوية المتحللة .

وعموما ، يحتوى الخل الناتج ، على نسبة من حامض الخليك ، لاتقل عن ٤,٠% .

الميكروبات المستخدمة

يتضمن إنتاج الخل ، عمليتين أساسيتين ، لكل منهما الميكروب الخاص بها

١ - إنتاج الكحول من المواد السكرية لاهوائيا ، بواسطة الخميرة ، حسب النظام المتبـع فـى عملية التخمر الكحولى .

٢ -أكسدة الكحول إلى حامض خليك هوائيا ، بواسطة بكتريا حامض الخليك ، وذلك بعد ضبـط نسبة الكحول بالسائل المتخمر إلى ١٠-١٣% ، وإضافة خل حديث غير مبسـتر ، بنسـبة ١٠-٢٠% من حجم البيئة ، ليعمل كلقاح ، وليساعد على التعقيم الجزئى من البكتريا غـير المرغوب فيها ، وليجعل الوسط حامضيا ، مناسبا لنمو بكتريا حامض الخليك .

بكتريـا حـامض الخليـك ، بكتريـا هوائيـة حتمـا ، تتبـع جنسـى *Gluconobacter* و *Acetobacter* ، ومن أهم أفرادها المستعملة فى الإنتاج

Acetobacter aceti , *A. pasteurianum* ,
Gluconobacter oxydans subsp. *suboxydans* (formerly *A. suboxydans*)

البكتريا عصوية ، مفردة أو فى سلاسل ، غير متجرثمة ، الخلايا الحديثة سالبة لصبغة جرام ، متحركة (بأسواط محيطية فى جنس *Acetobacter* ، وبأسـواط طرفيـة فـى جنـس *Gluconobacter*) .

وتحصل هذه البكتريا على الطاقة اللازمة لها ، من أكسدة المواد العضوية إلى أحماض عضوية . وفى التخمر الخليكى ، فإنها تحصل على الطاقة اللازمة لها ، من أكسدة الإيثانول إلى حامض خليك ، تحت الظروف الهوائية ، حسب المعادلة العامة التالية

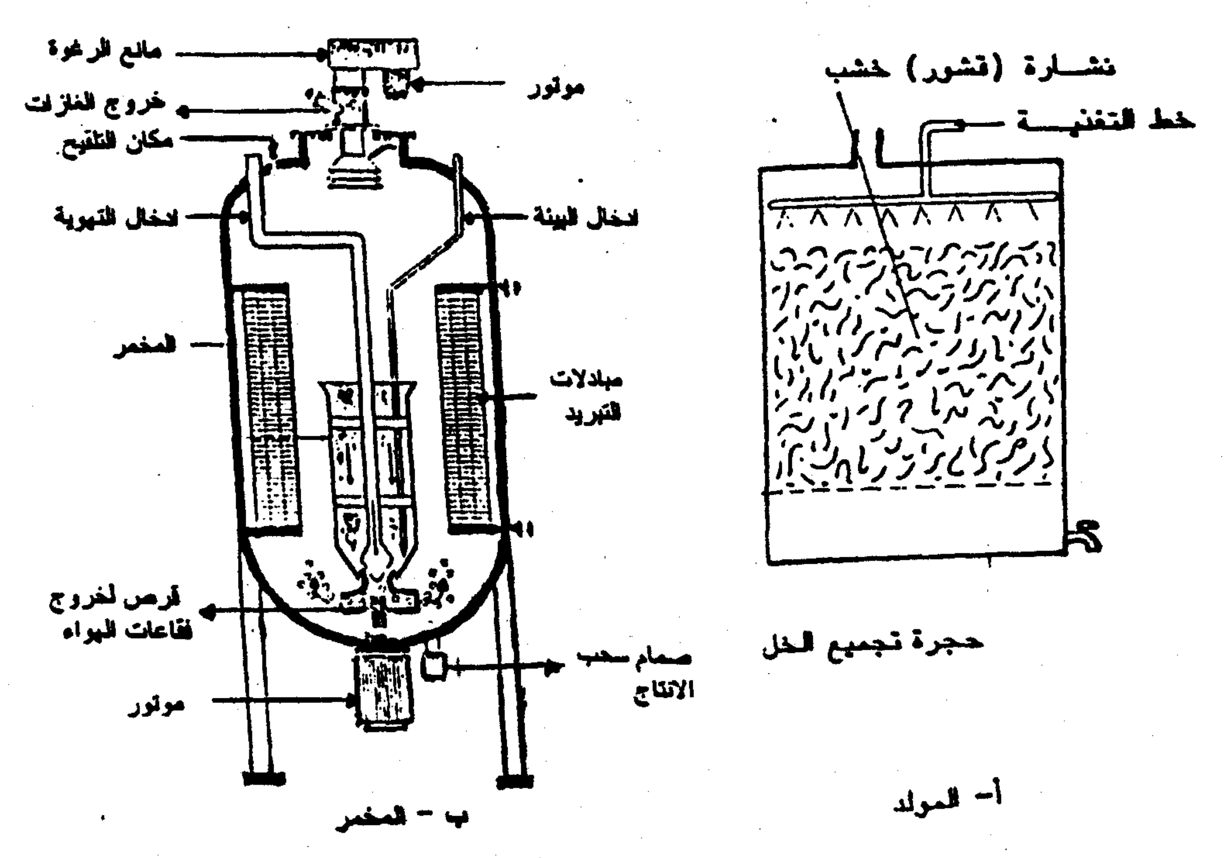
$$\underset{\text{إيثانول}}{CH_3-CH_2\,OH} + O_2 \xrightarrow{\text{بكتريا حامض الخليك}} \underset{\text{حامض خليك}}{CH_3-COOH} + H_2O$$

ولاينصح باستعمال مزرعة نقية فى إنتاج الخل ، لأن المزرعة الخليطة مـن بكتريـا حامض الخليك ، أعلى كفاءة فى إنتاج الخل ، من المزرعة النقية .

الإنتـــاج

يستعمل لإنتاج الخل ، أنواعا مختلفة من المخمرات ، تعتمد كلها على توفير الظـروف المناسبة ، لأكسدة الإيثانول إلى خليك، بواسطة بكتريا حامض الخليك . والشـكل [١٢ (٣)-٢] ، يوضح نوعين من هذه المخمرات ، المستعملة فى الإنتاج بالطريقة الســريعة ، وهمـا المولـد Generator ، والمخمر Fermentor فى طريقة المزرعة المغمورة Submerged method .

فى طريقة المولد ، يمرر الكحول المضبوط تركيزه ، والمحمض بالخل ، والمضاف له المواد الغذائية المناسبة لنمو بكتريا حامض الخليك ، يمرر من أعلى المولد إلى أســفل ، علـى نشارة (قشور) خشب * Wood shaving ، (وهى مادة مفككة ، تعمل كحامل لبكتريـا حـامض الخليك ، وتسمح بالتهوية) ، ملقحة ببكتريا حامض الخليك ، مع إمرار الهواء المضغوط بـالمولد من أسفل إلى أعلى ، وضبط الحرارة بيـن ٢٥-٣٥°م . ويلاحـظ ، أن إرتفـاع أو إنخفـاض الحرارة عن هذه الحدود ، يؤثر على نمو بكتريا حامض الخليك ، ويشـجع نمـو الميكروبـات الأخرى ، غير المرغوب فيها .



شكل ١٢ (٣) - ٢ : إنتاج الخل بالطريقة السريعة

أ - المولد : ينساب محلول مخفف من الكحول ، خلال نشــارة (قشـور) خشـب مغطـاة بالأسيتوباكتر ، فيتأكسد الكحول إلى خل .

ب - المخمر : وفيه يتم إنتاج الخل بالأكسدة ، تحت ظروف المزرعة المغمورة .

* عادة مايستعمل قشور خشب البلوط الخام ، ويوضع بين قشور الخشب بالمخمر ، أنابيب ملتفة (سربنتين) ، يمرر بها ماء بارد ، لخفض درجة الحرارة الناتجة عن التخمر الهوائي .

وأثناء مرور الكحول على نشارة الخشب ، تقوم بكتريا حامض الخليك تحت الظروف الهوائية ، بأكسدة الإيثانول إلى خل ، الذى يجمع من قاع المولد .

ويتم التخمر فى عدة أيام بطريقة المولد ، أما إذا أستعملت الطريقة المغمورة فى الإنتاج ، وهى طريقة مشابهة لطرق إنتاج المضادات الحيوية ، حيث تستعمل مخمرات كبيرة الحجم ، مزودة ببيئة التخمير واللقاح ، مع التهوية والتقليب ، فإن التخمر يتم فى حوالى ٣٠ ساعة .

تحت الظروف المناسبة من الإنتاج ، فإن كل ١٠٠ جزء جلوكوز بالبيئة ، تكون ٥٠ جزء حامض خليك ، أو ، أن كل ١ جم كحول ، تكون ١,٢٦ جم حامض خليك ، ونحصل فعلا ، على حوالى ٩٠% حامض خليك من هذه الكمية .

الخل الناتج من التخمر لونه أبيض ، وتركيز حامض الخليك (الاستيك) به حوالى ١٠% ، وتُعدَّل هذه النسبة بعد عملية التخمير ، بالتخفيف إلى حوالى ٤-٦% .

قد يجرى للخل المنتج عمليات تكميلية ، كالتخزين للتعتيق ، وذلك فى براميل مملوءة تماما بالخل (لمنع نشاط البكتريا الهوائية) ، ثم الترويق بالترشيح ، من خلال مرشحات اسبستوس ، ثم التعبئة فى زجاجات ، والبسترة على درجة ٦٠°م لعدة دقائق .

الطريقة البطيئة فى إنتاج الخل

مازالت طريقة إنتاج الخل فى فرنسا تتم بالطريقة البطيئة ، وتسمى أيضا بطريقة أورليانز Orleanse method ، وفى هذه الطريقة تملأ أوعية التخمير الخشبية بالنبيذ ، وتظهر بكتريا حامض الخليك على السطح فى صورة غشاء .

ويتم تحول الإيثانول إلى حامض خليك فى عدة أسابيع ، والعامل المحدد لذلك هو مدى إنتشار الهواء فى السائل المعد للتخمير ، حيث يتم ذلك التخمير فى الطبقة السطحية من السائل فقط .

وعلى الرغم من أن هذه الطريقة بطيئة فى الانتاج ، مقارنة بطرق التخمير الأخرى السابقة ، إلا أن الخل الناتج بالطريقة البطيئة ، يتميز بدرجة عالية من الجودة ، وبنكهة ورائحة مميزة .

فساد الخل

يفسد الخل بواحد ، أو أكثر ، من الأسباب التالية

١ - استعمال الأوانى المعدنية فى الإنتاج أو التعبئة

وهذا يسبب ، تكون لون وعكارة بالخل ، نتيجة تفاعل حامض الخليك مع هذه الأوانى، لذلك تستعمل أوانى خشبية ، أو زجاجية ، أو بلاستيكية .

٢- عدم تنظيم التهوية

قلة التهوية أثناء التخمير ، تثبط نمو بكتريا حامض الخليك ، كما تؤدى لحدوث تخمرات غير مرغوب فيها ، كالتخمر اللاكتيكى ، والبيوتريكى .

وزيادة التهوية بعد إنتهاء التخمير أو أثناء التخزين ، تدفع بكتريا حامض الخليك ، إلى أكسدة الخل المتكون إلى ثانى أكسيد كربون وماء ، للحصول على الطاقة اللازمة لها ، فتقل بذلك الحموضة بالخل الناتج .

٣- التلـوث

تسبب نمو الفطريات والخمائر الغشائية على سطح الخل ، ونمو دودة الخل * فى الخل ، تسبب نقص الحموضة ، وتغير طعم الخل ، وفساد مظهره .

ولتجنب هذا الفساد ، يروق الخل بعد إنتاجه ، ويبستر فى الأوانى المعبأ بها .

إنتاج حامض اللاكتيك : Lactic acid production

يستعمل حامض اللاكتيك فى الأغذية ، وفى صناعة الورنيش ، واللدائن ، والمنسوجات ، كما تستعمل مشتقاته فى الأغراض الطبية ، مثل لاكتات الكالسيوم لعلاج نقص الكالسيوم ، ولكتات الحديد لعلاج الأنيميا .

المادة الخام

ينتج حامض اللاكتيك تخميرياً من المواد الكربوهيدراتية ، مثل الذرة ، نشأ البطاطس ، المولاس ، الشرش . وعند استعمال المواد النشوية ، فيجب أن تحلل أولاً قبل التخمر ، إلى جلوكوز ، بواسطة الإنزيمات أو الأحماض .

ويتوقف إختيار نوع المادة الكربوهيدراتية المستخدمة ، على توفرها بالسوق المحلى ، وعلى نوع المعاملة اللازمة قبل التخمير ، والتكلفة الإقتصادية .

عموماً ، يستخدم الشرش Whey بكثرة فى إنتاج حامض اللاكتيك ، وينتج الشرش من صناعة المنتجات اللبنية كالجبن ، وهو يحتوى على حوالى ٥% سكر لاكتوز و١% مواد بروتينية ، كما يحتوى على بعض الفيتامينات والأملاح المعدنية ، ولذلك ، فإن الشرش يمثل بيئة مناسبة ، لنمو الأنواع القادرة على تخميره ، من بكتريا حامض اللاكتيك .

ويتكون حامض اللاكتيك حسب المعادلة العامة التالية

$$\underset{\text{لاكتوز}}{C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O} \xrightarrow{\text{لاكتيز}} \underset{\text{جلوكوز وجلاكتوز}}{2\,C_6H_{12}O_6} \xrightarrow[-4H_2]{\text{إنزيمات البكتريا}} \underset{\text{حامض بيروفيك}}{4\,CH_3-CO-COOH}$$

$$4\,CH_3-CO-COOH \xrightarrow[\text{Lactic acid dehydrogenase}]{4\,(NADH, H^+)} \underset{\text{حامض لاكتيك}}{4\,CH_3-CHOH-COOH}$$

---

* دودة الخل Vinegar eel, *Anguillula aceti*

ديدان ثعبانية ترى بصعوبة بالعين المجردة ، وهى غير ممرضة للإنسان ، ولكنها تسبب فساد الخل ، وتقتل بالبسترة .

البكتريا وتحضير اللقاح

يتكون حامض اللاكتيك فى الصناعة ، بتأثير بكتريا حامض اللاكتيك متجانسة التخمر ، ويتوقف نوع البكتريا المستخدمة ، على نوع المادة الخام المستعملة ، فتستعمل بكتريا *Lactobacillus delbrueckii* ، عند إستخدام المولاس والمواد السكرية ، وتستعمل بكتريا *L. bulgaricus* ، عند إستخدام الشرش ، لأن البكتريا الأولى ، غير قادر على تحليل سكر اللاكتوز الموجود بالشرش .

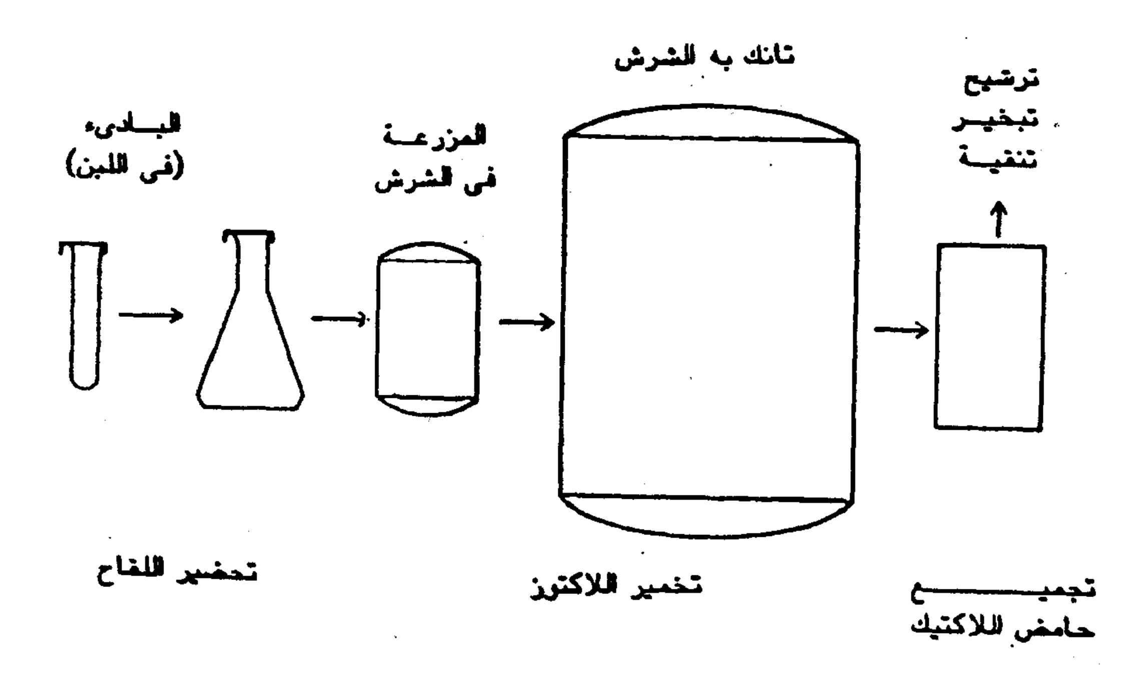
تُستخدم بيئة لبن الفرز (لبن منزوع منه القشدة) لحفظ مزارع *L. bulgaricus* ، ولتحضير اللقاح بالكمية الكافية للمخمر ، تجرى عملية نقل متكرر لبكتريا اللقاح ، مع التحضين فى كميات متزايدة من اللبن الفرز المبستر ، وأخيرا فى الشرش ، وتضاف المزرعة النامية بالشرش للمخمر ، بنسبة ٥-١٠% ، من حجم بيئة التخمير ، التى بالمخمر .

الإنتاج

يتم تحضين البيئة الملقحة بالمخمر ، على درجة ٤٣°م ، وهى درجة مناسبة لنمو بكتريا اللقاح ، وفى نفس الوقت تحد من نمو الميكروبات الأخرى المنافسة .

وأثناء التخمير ، يضاف باستمرار $Ca(OH)_2$ ، لمعادلة حامض اللاكتيك المتكون ، حتى تستمر عملية التخمر ، عند pH ٦-٦,٥ .

يتم التخمر لاهوائيا فى خلال يومين ، يتحول خلالها مايزيد عن ٨٥% من سكر اللاكتوز ، إلى حامض لاكتيك . وبعد إنتهاء التخمر ، يغلى السائل المتخمر لتجميع البروتين ، ثم يرشح للحصول على لاكتات الكالسيوم ، ثم تعامل اللاكتات بحامض الكبريتيك ، فترسب كبريتات الكالسيوم ، وينفرد حامض اللاكتيك ، الذى يركز بالتسخين تحت تفريغ ، ثم تجرى عمليات تنقية للحامض المتكون [شكل ١٢ (٣) - ٣] .



شكل ١٢ (٣) -٣ : إنتاج حامض اللاكتيك من الشرش بواسطة بكتريا *Lactobacillus bulgaricus*.

بكتريا حامض اللاكتيك والمنتجات اللبنية

تلعب الأحياء المجهرية ، خاصة بكتريا حامض اللاكتيك دورا أساسيا في إنتاج المنتجات اللبنية ، كالألبان المتخمرة والزبد والجبن . ويتم ذلك باستخدام مايعرف بالبادئات اللبنية Dairy starters .

والبادئات اللبنية عبارة عن مزارع نقية ، من ميكروب واحد أو أكثر ، لسلالات معينة من البكتريا أو الفطريات ، وتستخدم البادئات فى صناعة الألبان للحصول على منتجات لبنية ذات صفات معينة مرغوب فيها .

لإنتاج البادئات اللبنية ، تلقح البكتريا المطلوبة بنسبة ١-٢% فى لبن جيد ، سبق تسخينه عند درجة ١٠٠°م لمدة ٣٠ دقيقة وتبريده ، ثم التحضين لعدة ساعات (حوالى ١٦ ساعة) على درجة ٢١-٢٢°م ، وهى درجة مناسبة لنمو بكتريا البادىء ، ولكنها غير مناسبة لنمو البكتريا الملوثة التى توجد باللبن بعد المعاملة الحرارية .

وبعد التحضين يحتفظ بالمزارع فى الثلاجة ، وعند الاستعمال ينشط البادىء فى لبن معقم ، خالى من المواد المثبطة ، للحصول على المزارع الكبيرة Bulk cultures ، التى تستخدم كبادىء فى تصنيع المنتجات اللبنية .

وجدول [١٢ (٣) - ٧] : يبين أهم أنواع البادئات اللبنية .

جدول ١٢ (٣) - ٧ : أهم أنواع البادئات المستخدمة فى الصناعات اللبنية .

البادىء	الغرض من الاستعمال	المنتـــج
Streptococcus lactis	انتاج حموضة	الألبان المتخمرة
S. cremoris	انتاج حموضة	الزبد، وكثير من أنواع الجبن
S. thermophilus	انتاج حموضة	الألبان المتخمرة ، الجبن السويسرى
S. diacetilactis	انتاج حموضة ، ومواد طعم ونكهة	الالبان المتخمرة ، القشدة
Lactobacillus acidophilus	انتاج حموضة	لبن الاسيدوفلس
L. bulgaricus	انتاج حموضة	اللبن البلغارى المتخمر
Leuc. citrovorum	انتاج مواد طعم ونكهة	الألبان المتخمرة ، القشدة ، الزبدة
Leuc. dextranicum	انتاج مواد طعم ونكهة	الألبان المتخمرة ، القشدة ، الزبدة
Propionibacterium shermanii	تكوين عيون ، ومواد طعم ونكهة	الجبن السويسرى
Penicillium, e.g. *P. roqueforti* *P. camemberti*	تسوية الجبن وإكسابه الطعم المميز	بعض أنواع الجبن : جبن الروكفور جبن الكاممبرت

إنتاج الأسيتون – بيوتانول : Acetone – Butanol Production

نشأت هذه الصناعة التخميرية ، أثناء الحرب العالمية الأولى ، بسبب الحاجة إلى الأسيتون فى عمل المفرقعات ، ورغم أن إنتاج هذه المواد يتم الآن تخليقيا من نواتج البترول ، إلا أن تصنيعها بيولوجيا ، مازال قائما فى بعض البلاد .

يستعمل الأسيتون كمذيب ، وفى المفرقعات ، والحديد الصناعى ، وفى تحضير الصموغ .

ويستعمل البيوتانول كمذيب ، وفى البويات ، والبلاستيك ، وفى إنتاج الإسترات ، المستعملة فى الصناعة ، كمادة واقية للأسطح Protective coating .

البيئة المناسبة

يمكن استعمال المخلفات الكربوهيدراتية القابلة للتخمر ، كمصدر كربونى مناسب فى بيئة التخمير ، فيستعمل مهروس الذرة ، بنسبة ٦-٩% من البيئة ، أو المولاس المعدلة به نسبة السكر الى ٥-٦% ، مع إضافة كبريتات الأمونيوم ، وضبط الـ ق يد فى البداية عند حوالى ٧,٢ .

البكتريا المستخدمة

البكتريا المستخدمة فى التخمير هى أنواع من جنس *Clostridium* ، وهى بكتريا عصوية ، متجرثمة ، موجبة لصبغة جرام ، لاهوائية ، متحركة .

ويختلف نوع البكتريا المستعملة فى التخمير ، بإختلاف المصدر الكربوهيدراتى المستخدم فى البيئة . فيستعمل *Clostridium acetobutylicum* ، فى حالة استخدام مهروس الذرة ، ويستعمل *Cl. saccharoacetobutylicum* ، فى حالة استخدام المولاس .

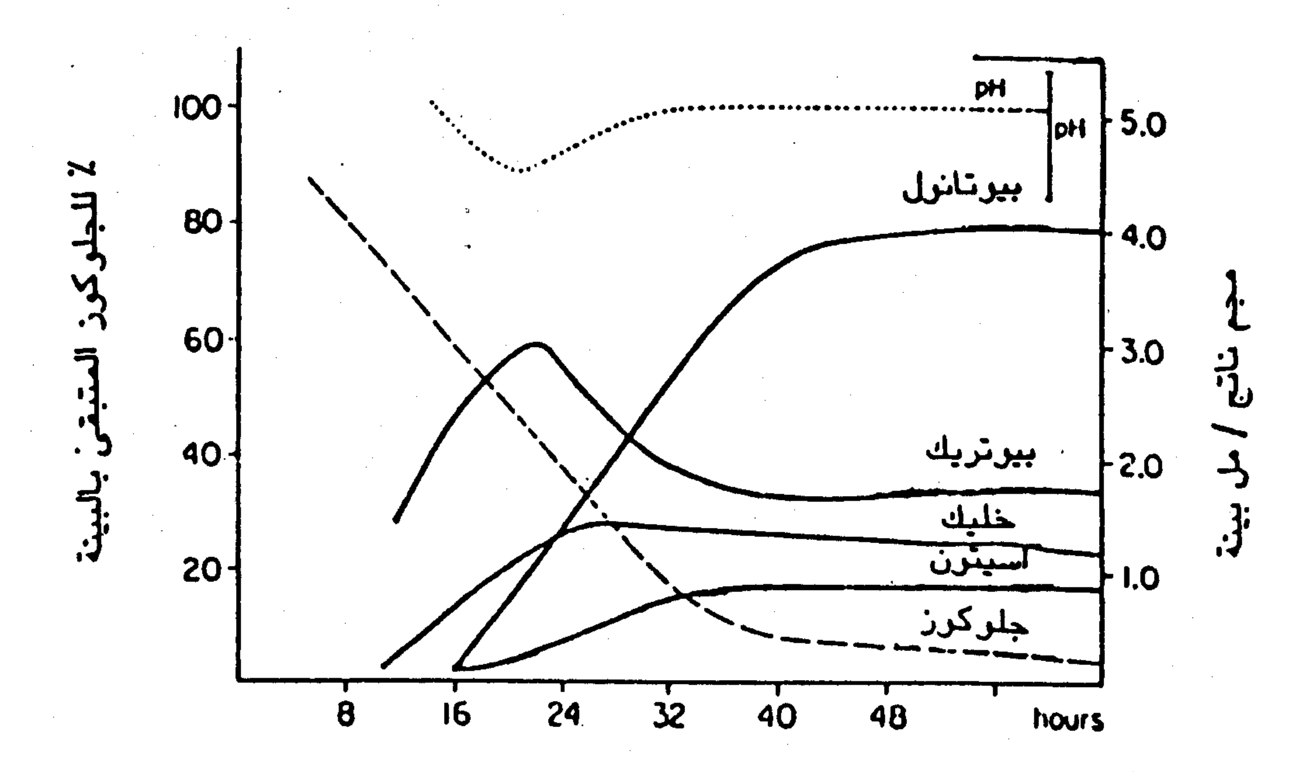
وعموما ، فإن اللقاح المستخدم ، يجب أن يكون من مزرعة نشطة ، نقية ، مع مراعاة تعقيم جميع الأدوات ، المستخدمة فى الإنتاج ، لأن التلوث ببكتريا حامض اللاكتيك ، أو بالبكتريوفاج ، يؤدى إلى فشل ذريع فى التخمر .

الإنتاج

يضاف اللقاح الى بيئة التخمير ، بنسبة ٥% من حجم البيئة ، وتحضن المزرعة على درجة ٣٠-٣٧°م ، تحت ظروف لاهوائية ، مع مراعاة ضبط ق يد البيئة ، بإضافة كربونات الكالسيوم أثناء التخمر لمعادلة الأحماض المتكونة . ويبدأ التخمر عند ق يد ٦,٥ ، ويصل فى نهاية فترة التخمر إلى ٥,٠ .

يتم التخمر فى حوالى ٣ أيام [شكل ١٢ (٣) – ٤] ، حيث يتحول حوالى ٣٠% من وزن بيئة التخمير الى مذيبات . وتشمل المذيبات المتكونة : البيوتانول ، الأسيتون ، الإيثانول ، بنسبة حوالى ٦ : ٣ : ١ . وتستخلص المذيبات الناتجة ، بالتقطير .

ويلاحظ أن نجاح هذه الصناعة ، يعتمد على التحكم فى أسباب التلوث ، من الكائنات غير المرغوب فيها ، التى تفسد عملية الإنتاج .



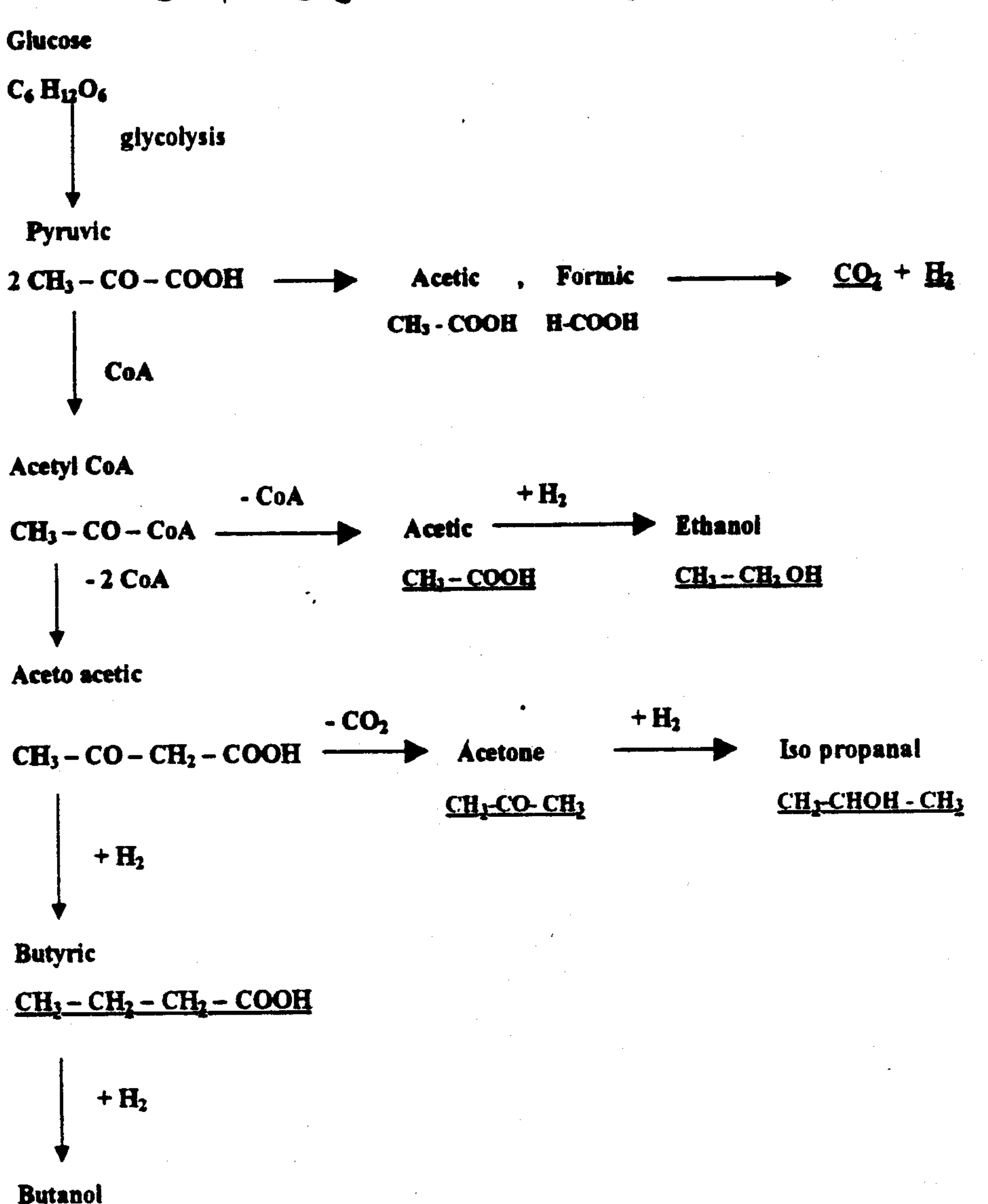
شكل ١٢ (٣) - ٤ : تخمر الجلوكوز بواسطة *Clostridium acetobutylicum* .

الغازات الناتجة من التخمر

أثناء التخمر ، تتكون كميات كبيرة من غازات : ثانى أكسيد الكربون (حوالى ٦٧% من جملة الغازات الناتجة) ، وايدروجين (حوالى ٣٣% من الغازات الناتجة) . تجمع الغازات الناتجة لتستخدم فى الأغراض الصناعية .

التفاعلات البيولوجية

فى هذا التخمر ، فإنه بالإضافة إلى الأسيتون ، والبيوتانول ، والإيثانول ، والغـــازات المتكونة ، فإنه ينتج أيضا بعض النواتج الأخرى ، كما هو موضح فى النظام التالى



المركبات التى تحتها خط ، هى نواتج نهائية للتخمر .

إنتاج الأحماض الأمينية

تستطيع الكثير من الأحياء المجهرية ، تخليق الأحماض الأمينية اللازمة لها من مـــواد نتروجينية غير عضوية ، وكمية الأحماض المتكونة ، قد تفوق حاجة الخلية الميكروبية ، فتفرز في البيئة .

وقد لوحظ أن بعض المجهريات ، قادرة على تكوين كميات كبـــيرة مـــن الأحمــاض الأمينية ، تصلح لإنتاجها تجاريا ، مثل أحمـــاض : اللايســـين ، الأســبارتيك ، الجلوتــاميك ، التربتوفان ، الثرايونين .

إنتاج اللايسين : L-Lysine production

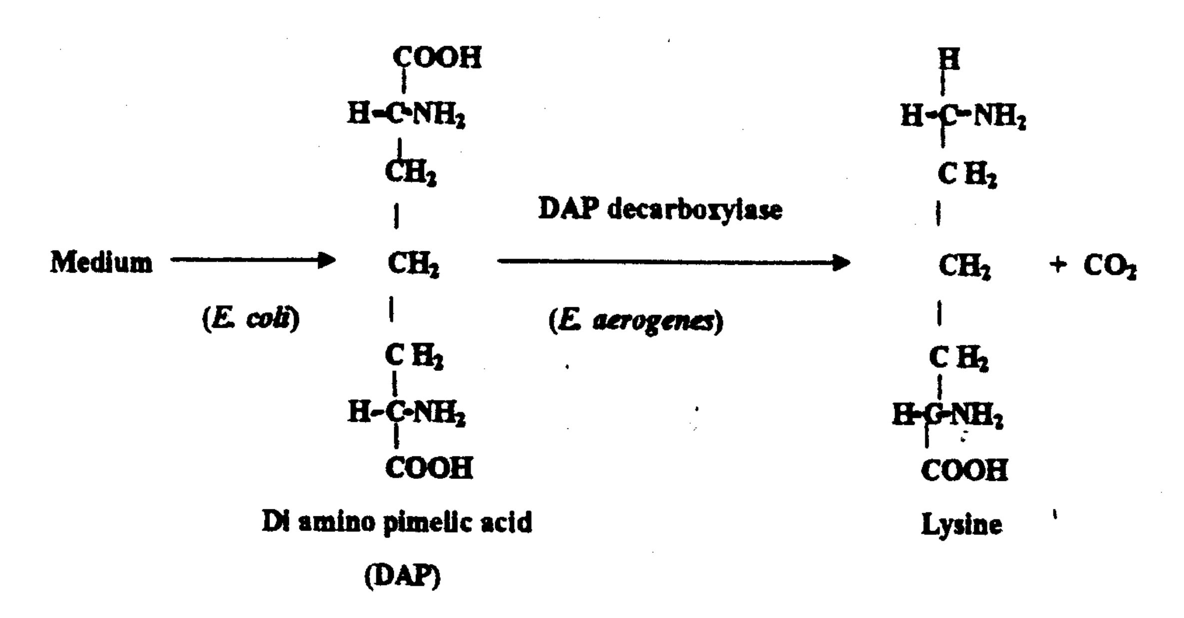
اللايسين من الأحماض الأمينية الأساسية في التغذية ، وهو يضاف للبروتينات النباتيــة، لسد النقص في محتواها من هذا الحامض الأميني ، كما يضاف للخبز ، وبعض المواد الغذائية .

تعتمد إحدى الطرق المستخدمة تجاريا لإنتاج اللايســـين ميكروبيــا علــى مرحلتيــن أساسيتين . ولكل مرحلة الميكروب الخاص بها

١ – مرحلة تكوين حامض داى أمينوبيميليك Di amino pimelic acid (DAP)
ويتم ذلك ، بواسطة بكتريا *E. coli* .

٢ –مرحلة نزع مجموعة كربوكسيل من الحامض السابق

ويتم ذلك ، بواسطة إنزيم DAP decarboxylase ، النـــاتج مـــن بكتريــا *Enterobacter aerogenes* ، حسب التفاعل التالي



ينمى *E. coli* ، في بيئـــة تحتـــوى علـــى الجلســـرول ، وســـائل منقـــوع الـــذرة ، و $(NH_4)_2HPO_4$ ، مع توفر الظروف المناسبة ، من تهوية ، وحرارة و pH . وبعد حوالـــى ٣ أيام من التحضين ، يضاف إنزيم DAP decarboxylase ، لتحويل حامض DAP الى لايسين .

إنتاج الجلوتاميك : L-Glutamic

يستعمل حامض الجلوتاميك ، كإضافات غذائية ، وكمادة مكسبة للطعم والنكهة ، وهو يضاف للأغذية ، فى صورة جلوتامات أحادى الصوديوم Monosodium glutamate .

تستطيع أنواع عديدة من المجهريات ، خاصة التابعة للبكتريا والفطر ، إنتاج حامض الجلوتاميك بكميات كبيرة ، تحت شروط هوائية ، والأنواع البكتيرية المستخدمة صناعيا ، تتبع أجناس *Arthrobacter, Brevibacterium & Micrococcus* .

تستخدم بكتريا *Brevibacterium divaricatum* بكثرة فى الإنتاج . وتتكون البيئة أساسا ، من كربوهيدرات ، ببتون ، أملاح معدنية ، بيوتين ، وتركيز البيوتين فى البيئة ، له تأثير كبير على كمية حامض الجلوتاميك المنتج ، وعادة مايضاف البيوتين ، بنسبة ٢,٥ ميكروجرام / لتر بيئة ، وزيادة ، أو نقص تركيز البيوتين عن ذلك ، يضر بالإنتاج .

يتم التحضين تحت شروط هوائية تماما ، على درجة ٣٠°م لمدة يومين . ويعتبر حامض الفاكيتوجلوتاريك ، الناتج من دورة كربس TCA cycle ، هو المادة الممهدة Precursor ، لتكوين حامض الجلوتاميك ، حسب المعادلة التالية

$$\underset{\alpha\text{-Keto glutaric}}{\begin{array}{c}COOH\\ |\\ CO\\ |\\ CH_2\\ |\\ CH_2\\ |\\ COOH\end{array}} \xrightarrow[+NH_3 + NADH,\ H^+]{\text{Glutamic acid dehydrogenase}} \underset{\text{Glutamic}}{\begin{array}{c}COOH\\ |\\ H\ C\ NH_2\\ |\\ CH_2\\ |\\ CH_2\\ |\\ COOH\end{array}} + NAD^+ + H_2O$$

إنتاج الدكستران : Dextran production

الدكستران عبارة عن بوليمر من جزيئات الجلوكوز ، بروابط جليكوزيدية متعددة ، بين الجزيئات ، وهى روابط متعددة منها -١ ، ٦- و -١ ، ٤- و -١ ، ٣- ، ولكن أغلبها هو ألفا -١ ، ٦- جليكوزايد . والدكستران له خواص صمغية ، وهو ذو وزن جزيئى مرتفع يتراوح مابين ١٥ ألف إلى ٢٠ مليون ، وذلك حسب نوع السلالة البكتيرية التى تنتجه .

يُنتج الدكستران مجموعة كبيرة من المجهريات ، عندما تنمو فى بيئة غنية بالسكروز ، ومن أهم الأنواع البكتيرية التى تنتج الدكستران بكميات كبيرة مايتبع جنس *Leuconostoc* مثل *L. dextranicum & L. mesenteroides* ، وهى بكتريا كروية ، موجبة لصبغة جرام ، سالبة للكاتاليز ، خليطة التخمر ، وتقوم هذه البكتريا بتحويل السكروز إلى دكستران خارج خلاياها ، بإنزيم خارجى Extracellular hexosyl transferase ، يسمى Dextran saccharase ، حسب المعادلة العامة

$$n\ \text{Saccharose} + (1,6\text{-}\alpha\text{-Glycosyl})_m \longrightarrow n\ \text{Fructose} + (1,6\text{-}\alpha\text{-Glycosyl})_{m+n}$$

يستخدم الدكستران فى الصناعات الغذائية ، وفى النواحى الطبية كبديل لبلازما الـدم ، كما يستخدم فى أعمدة الفصل المعروفة بالسفادكس Sephadex ، التى تسمح بالفصل الطبيعى Physical fractionation للجزيئات المذابة حسب إختلاف أوزانها الجزيئية ، كما يستخدم الدكستران فى تقدير الأوزان الجزيئية للمواد ، التى يتراوح وزنها الجزيئى مابين ٧٠٠ إلى ٨٠ ألف دالتون .

ومن ناحية أخرى ، فإن تحول السكروز إلى دكستران ، يسبب متاعب كبيرة فى صناعة السكر.

ويوضح الجدول [١٢ (٣) – ٨] ، أنواع من عديدات التسكر Polysaccharides التى تنتجها البكتريا .

جدول ١٢ (٣) – ٨ : عديدات التسكر التي تنتجها البكتريا واستخداماتها .

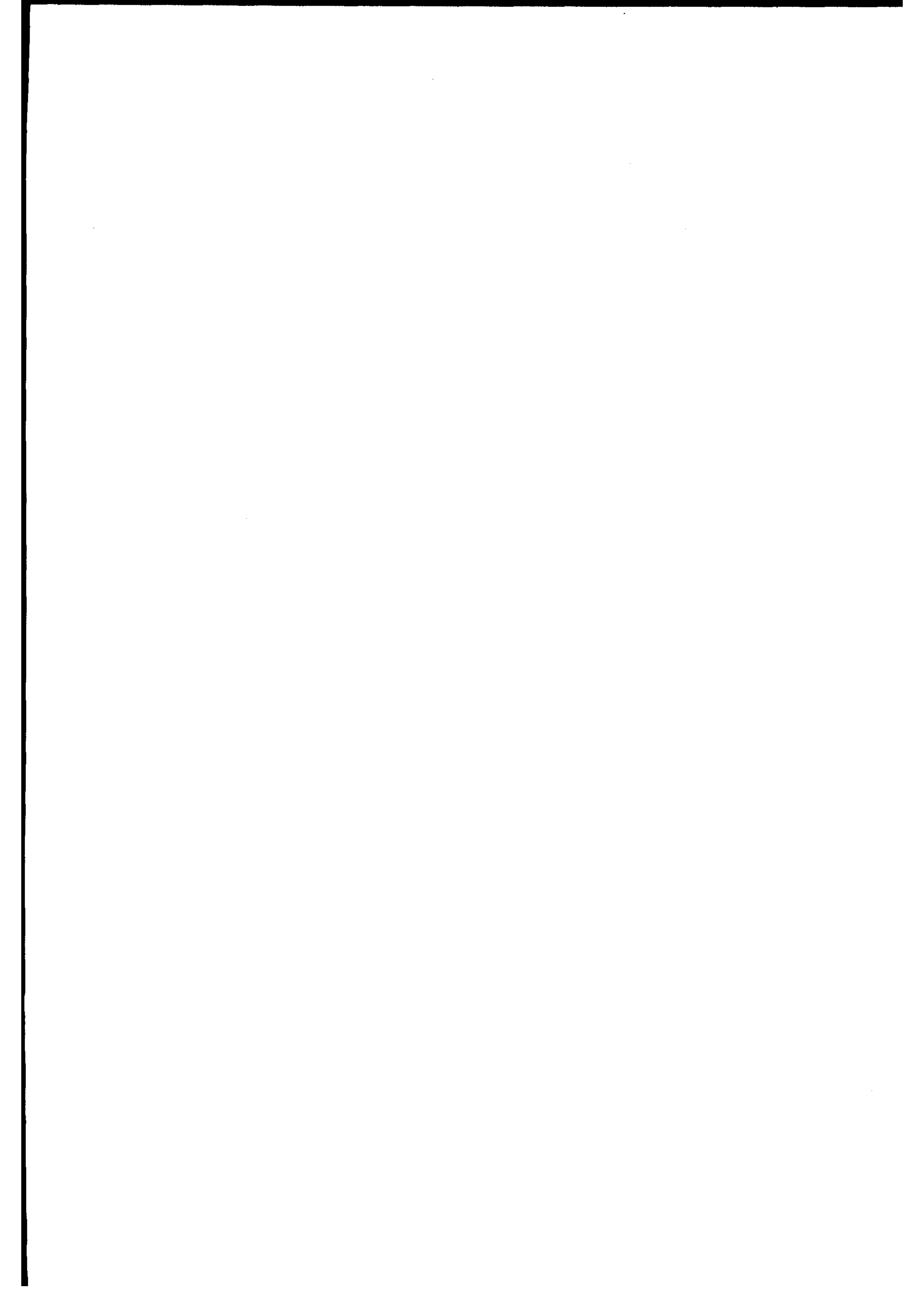
البوليمر المنتج وتركيبه	البكتريا المنتجة	الاستخدامات
دكستران Dextrane بوليمر من الجلوكوز بروابط متعددة ، أغلبها ألفا –١ ، ٦ – جليكوزايد	*Leuconostoc mesenteroides* *Acetobacter* *Klebsiella* *Streptococcus*	– فى الصناعات الغذائية – ماص فى الصناعات البيوكيميائية – فصل الجزيئات – بديل لبلازما الدم
الجينات Alginate بوليمر من Mannuronic and glucuronic ، برابطة بيتا –٤،١– جليكوزايد	*Azotobacter vinelandii* *Pseudomonas aeruginosa*	– فى الصناعات الغذائية – فى صناعة الورق والنسيج – تغطية النباتات والجروح كمادة محبة للماء
زانثان Xanthan (بوليمر من جلوكوز برابطة بيتا – ١ ، ٤– جليكوزايد ، شبيه بالسليلوز ، مع سلاسل جانبية من سكريات ثلاثية)	*Xanthomonas campestris*	– إضافات للجبن الطرية والقشدة ومستحضرات التجميل – مثبت للمستحلبات – بديل للصمغ العربى
البالبولان Pullulan* بوليمر من وحدات Malto-triose برابطة ألفا –٦،١– جليكوزايد	فطر (خميرة) *Aureobasidium pullulans (Pullularia)*	– تغطية المنتجات الغذائية – فى بعض المستحضرات الطبية
كردلان Curdlan (بيتا –١ ، ٣– جلوكان)	*Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes*	– يضاف كجلي للبودينج والأغذية – لايهضم فى القناة الهضمية ، لذا فهو منخفض فى سعراته الحرارية

* أنظر تذيل ص ٩٤٣ .

﴿الباب الثانى عشر – الفصل الرابع﴾
الميكروبات والمنتجات الحيوية

المحتويـــات

الموضوع **الصفحة**



﴿الباب الثانى عشر - الفصل الرابع﴾

الميكروبات والمنتجات الحيوية

Microbes and Bioproducts

الغاز الحيوى : Biogass

الغاز الحيوى هو أحد الوسائل الهامة ، التى يمكن استخدامها كبديل لمصادر الطاقة التقليدية ، خاصة فى المناطق الريفية التى يصعب توفير البترول بها . ويعتبر الغاز الحيوى ، من مصادر الطاقة البديلة المتجددة ، وذلك بالإضافة الى الطاقة المستمدة من الشمس والرياح والمياه ، كما يعتبر الغاز الحيوى ، أحد الوسائل التكنولوجية المستعملة فى تدوير المخلفات العضوية والاستفادة منها ، والتقليل من حدة التلوث البيئى .

انتاج الغاز

يُنتج الغاز الحيوى من المخلفات الآدمية والحيوانية والنباتية ، وذلك بواسطة البكتريا عند تحليلها لتلك المخلفات العضوية . والغاز الناتج نتيجة التخمر ، هو خليط من غاز الميثان القابل للاشتعال (يمثل من ٥٠ - ٦٥% من كمية الغازات المنتجة) ، وثانى أكسيد الكربون الغير قابل للاشتعال (من ٣٥ - ٤٥%) ، مع نسب قليلة من غازات أخرى (تتراوح من ١ إلى ٥%)، مثل الايدروجين وكبريتور الايدروجين والنتروجين والأمونيا وأول أكسيد الكربون وثانى أكسيد الكبريت .

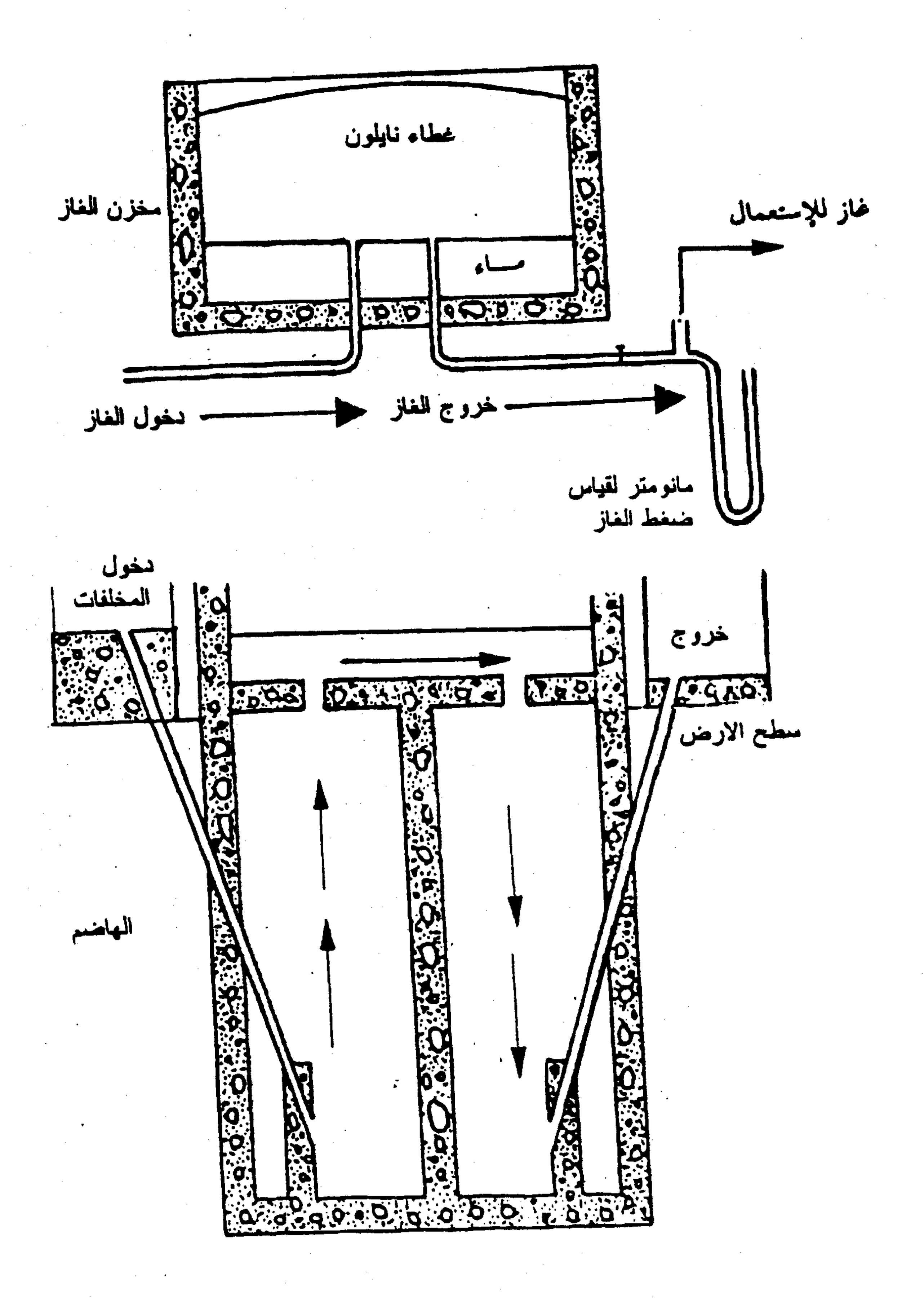
ويتم انتاج الغاز الحيوى فى وحدات خاصة [شكل ١٢ (٤) - ١] تقام قرب أماكن توفر المخلفات العضوية ، وتتكون الوحدة من هاضم Digester وهو الجزء الأساسى بالوحدة ، ويبنى تحت سطح الأرض بحجم مناسب ، وفيه توضع المخلفات ويتم تخميرها ميكروبيا ، وتتجمع الغازات الناتجة من الهاضم فى مخزن لتجميع الغازات Gas holder ، ومن هذا المخزن عن طريق الأنابيب والوصلات ، يوجه الغاز إلى أماكن الاستعمال ، وقد يقام مجمع الغازات فوق سطح الأرض كما فى النظام الهندى ، وقد يقام تحت سطح الأرض كما فى النظام الصينى .

تختلف المدة التى يتم فيها التخمير ، بإختلاف طبيعة المخلفات المستعملة وظروف التخمير ، وتصل تلك المدة لحوالى أسبوعين فى حالة المخلفات الحيوانية .

ووجود غاز ثانى أكسيد الكربون الغير قابل للأشتعال ، مع غاز الميثان القابل للإشتعال يعتبر عاملاً هاماً لتعديل درجة اشتعال غاز الميثان ، وتقارب كمية الحرارة الناتجة من حرق غاز الميثان (٨ آلاف كيلو كالورى/م^{3}) ، تلك الناتجة من حرق الغاز الطبيعى (١٠ آلاف كيلو كالورى/م^{3}) ، مما يوضح أهمية استعمال غاز الميثان كمصدر للطاقة .

تحلل المخلفات والبكتريا المنتجة للغاز

ينتج الغاز الحيوى من المخلفات العضوية ، نتيجة لتعايش وتتابع نشاط مجموعة كبيرة من الأحياء المجهرية ، وتبدأ خطوات التحلل الأولى تحت ظروف هوائية ، فتتحلل المواد العضوية المعقدة إلى مواد بسيطة ، هى السكريات والأحماض الدهنية والأحماض الأمينية والجلسرول ، وبتقدم خطوات التحلل يقل الأكسجين بالوسط تدريجيا ، وتنشط البكتريا الاختيارية ثم اللاهوائية

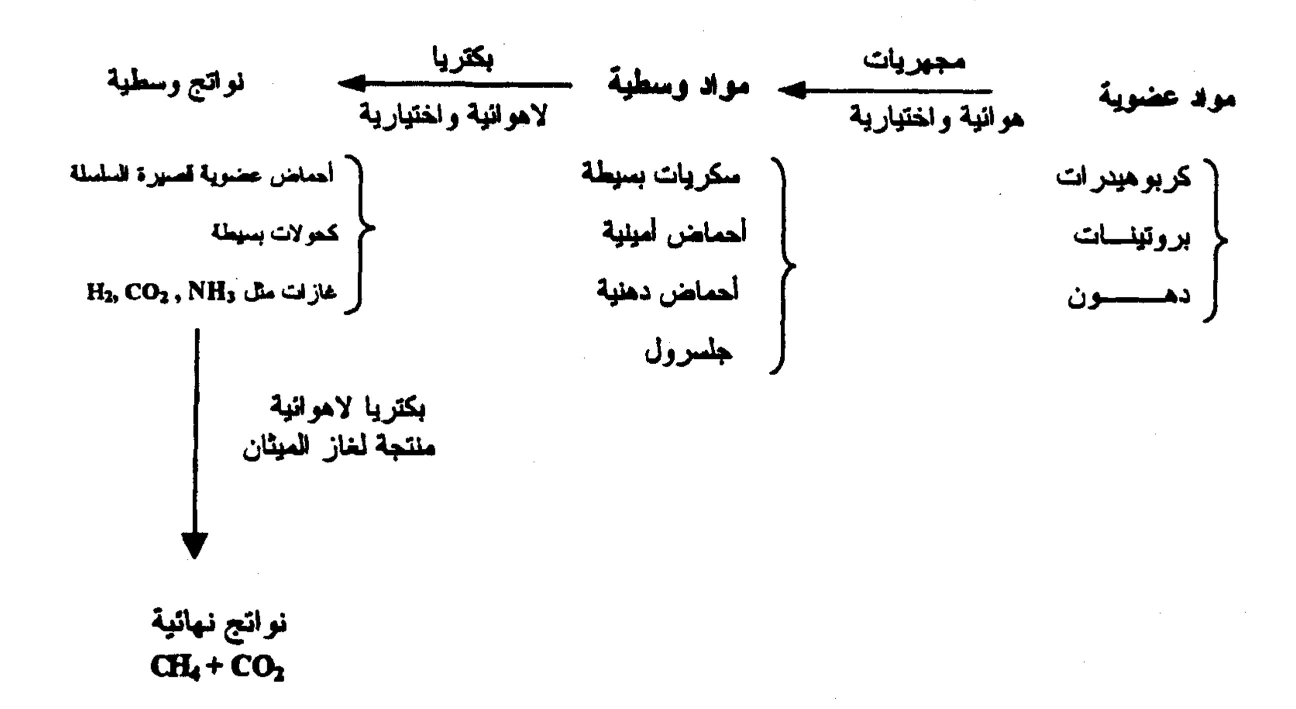


شكل ١٢ (٤) - ١ : مقطع فى الهاضم ومخزن تجميع الغازات .Digester and gas holder

مثل *Bacteroides, Clostridiium, Ruminococcus* ، وتتكون أحماض عضويــــة قصــيرة السلسلة مثل الفورميك والأستيك والبروبيونيك ، وكحولات بسيطة مثل الإيثانول والبروبـــانول ، وغازات مثل الايدروجين وثانى أكسيد الكربون والأمونيا . وبسيادة الظروف اللاهوائية ، تنشط البكتريا اللاهوائية المنتجة لغاز الميثان Methanogenic bacteria ، كتلك التابعة لأجناس :

Methanobacterium, Methanococcus, Methanomicrobium, Methanospirillum, Methanothrix

فتتحلل المركبات الوسطية السابق تكونها وتختزل ، وينتج خليط من غاز الميثان وثــانى أكســيد الكربون ، المعروف بالغاز الحيوى ، كما يتضح من التخطيط التالى



أهمية التخمــر

يستعمل الغاز الحيوى الناتج من التخمر كبديل لمصادر الطاقة التقليدية ، فــى الانــارة والطهى والتدفئة وتوليد الكهرباء ، ويستفاد من النواتج المتبقية من التخمــر الصلبــة والســائلة كسماد عضوى ، لأنها مخلفات غنية فى محتواها من المواد العضوية والنتروجينية والفوســفور والعناصر الأخرى .

إضافة إلى ذلك ، فإن تجميع المخلفات النباتية والحيوانية والآدمية ، وتخميرها لإنتــاج البيوجاز ، يؤدى إلى رفع المستوى الصحى خاصة فى الأرياف ، ويحدث ذلك نتيجة التخلــص الصحيح من المخلفات ، الذى يوقف إنتشار الذباب والبعوض ، ويحد من التلوث الميكروبــى ، ويمنع إنتشار الأمراض .

لقاحات الأسمدة الحيوية * : Inoculants of biofertilizers

لقاحات الأسمدة الحيوية أو اللقاحات الميكروبية ، هي إضافات ذات أصل حيوى ، تضاف للتربة الزراعية ، لتمد النبات النامى بإحتياجاته الغذائية ، وتعتبر هذه اللقاحات مصادر غذائية للنبات رخيصة الثمن ، أذا ماقورنت بالأسمدة المعدنية .

وبالإضافة الى ماتقوم به لقاحات الأسمدة الحيوية ، من إغناء للتربة بالعناصر الغذائية مثل النتروجين والفوسفور ، فإنها تفرز مواداً منشطة لنمو النبات من أكسينات وفيتامينات ومواد مشجعة على النمو ، تساعد على إنبات البذور ونمو النبات ، كما أن اللقاحات تفرز أيضاً الكثير من المواد المثبطة لنمو فطريات التربة المرضية .

وتنتج لقاحات الأسمدة الحيوية ** من الكائنات المجهرية ، كالبكتريا والسيانوبكتريا والفطريات ، وذلك بإختيار السلالة المطلوبة ، وإكثارها فى مزارع ملائمة ، ثم نقل النمو إلى حامل مناسب Carrier ، ويحفظ المنتج تحت ظروف التخزين الملائمة ، لحين استعماله كلقاح للبذور أو للتربة .

وتوزع اللقاحات بالأسواق تحت أسماء تجارية متعددة منها العقدين Okadin (لقاح بكتريا العقد الجذرية) ، والبلوجرين Blue green (لقاح السيانوبكتريا) ، والفوسفورين Phosphorin (لقاح البكتريا المذيبة للفوسفات) .

ومن أمثلة لقاحات الأسمدة الحيوية ، ذات الأهمية الاقتصادية الكبيرة على الانتاج الزراعى :

- **اللقاحات المثبتة لنتروجين الهواء الجوى ، ومنها**

لقاحات بكتريا العقد الجذرية (الرايزوبيا) للبقوليات ، لقاح الآزوسبيريللوم للنجيليات ، ولقاح الفرانكيا لغير البقوليات ، ولقاحات السيانوبكتريا والأزولا لمزارع الأرز .

- **اللقاحات المذيبة للفوسفات ، ومنها**

لقاح بكتريا *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* ، ولقاح فطر الميكوريزا

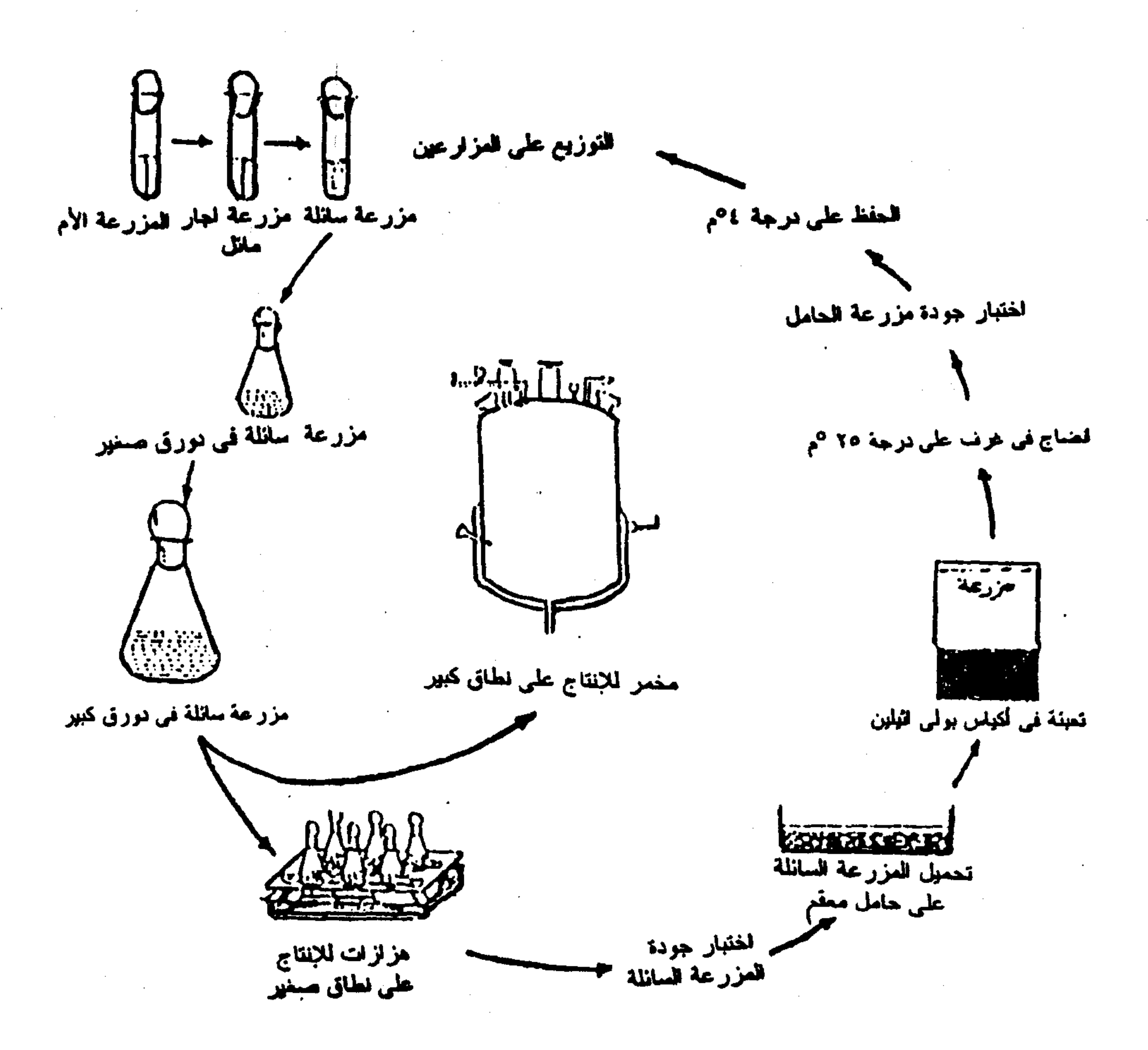
وتفيد هذه اللقاحات الكثير من المحاصيل الزراعية ، خاصة تلك المنزرعة فى مناطق تعانى تربتها من نقص فى محتواها من الفوسفور الميسر .

ويبين الشكل [١٢ (٤) - ٢] خطوات انتاج لقاح بكتريا العقد الجذرية (الرايزوبيا)

---

* أنظر التقنية الحيوية والسيانوبكتريا (الأسمدة الحيوية) ، الباب السابع عشر ، ص ص ١١٢٠ و ١١٢١ .

** تنتج هذه اللقاحات الآن تجارياً ، بمعرفة هيئات متعددة ، منها وزارة الزراعة المصرية .



شكل ١٢ (٤) - ٢ : خطوات انتاج لقاح بكتريا العقد الجذرية (الرايزوبيا)

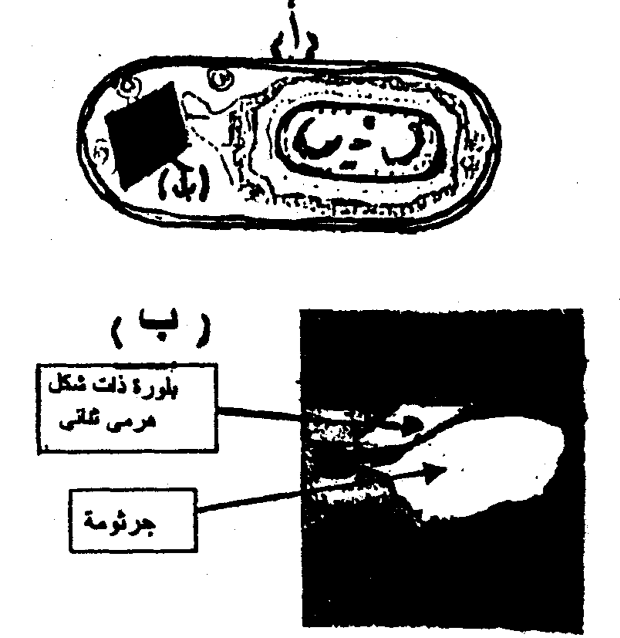
المبيدات الحيوية للآفات : Biopesticides

تسبب الآفات خسائر إقتصادية كبيرة للمحاصيل الزراعيـــة ، وتُقَـاوم تلـك الآفـات بالمبيدات الكيميائية ، ونظراً لارتفاع تكاليف المقاومة الكيميائية عامـاً بعـد عـام ، وماتسـببه الكيميائيات المستخدمة من تلوث للبيئة ، وماتولده من أنواع من الآفات منيعة ضد الكيميائيـات ، وماتحدثه من أضرار لأعداء الآفات الطبيعية ، فقد اتجه العالم بقوة لتطبيق أسـلوب المكافحـة الحيوية Biological control ، باستخدام المبيدات الحيوية للآفات كبديل للكيماويات .

وفى المكافحة الحيوية للآفات ، تستخدم تحضيرات ميكروبية مناسبة ، تعرف بالمبيدات الحيوية للآفات ، لمكافحة الآفات ، ويشترط فى هذه التحضيرات أن لاتكون ضارة بالنبـات أو الحيوان أو الإنسان .

ومـن المجـهريات المسـتخدمة الآن فـى مكافحـة الحشـرات بنجـاح بكتريـا *Bacillus thuringiensis, B.t.* خاصة السلالة B.t. MD-1 ، وتحتوى هذه البكتريا وهـى فـى طور الاسبورانجيا [شكلى أ ، ب] على بلورات سامة توجد بداخـل الخليـة قـرب الجرثومـة الداخلية للبكتريا . وهذا السم عبارة عن جليكوبروتين ، ذو وزن جزيئى مرتفع يصل الـى ٢٥٠ ألف دالتون .

تجهز مستحضرات بكتريا .B.t المستخدمة كمبيد حيوى ، بتنمية السلالة البكتيرية فـى وسط ملائم ، ومنه يجهز المبيد فى حالة جافة أو مبتلة ، ويستعمل المبيد بالحقل تعفيراً أو رشـاً على أوراق النباتات المصابة ، ويحتوى الجرام (أو المليلتر) من المبيد الحيوى علـى مـالايقل عن 10^8 خلية بكتيرية . ويستخدم المبيد الحيوى بنجاح فى مقاومة يرقات الحشـرات حرشـفية الأجنحة ، مثل يرقات دودة ورق القطن *Spodoptera littoralis* ، وتموت الحشرة خـلال ٣-٤ أيام من دخول البكتريا بجسمها .



شكل أ

رسم تخطيطى يوضح وضع البلورة السامة (بل) قرب الجرثومة الداخلية (جـ) لبكتريا *B.t.* .

الخلية البكتيرية فى طور الاسبورانجيا ، وتظـهر البلـورة السـامة (بـل) كجسـم مجـاور Parasporal body لجرثومة البكتريا .

شكل ب

صورة بالمجهر الالكترونى الماسح (× ٧٠٠٠)

توضح الصورة شكل البلورة ذات الشكل الهرمى الثنـائى Bi-pyramidal crystal المجـاورة لجرثومة بكتريا *B.t.* var. *entomocidus* .

المضادات الحيوية : Antibiotics

أن أول مادة كيميائية استخدمت فى العلاج كمضاد حيوى ، هى البنسلين Penicillin ، وكان ذلك من إكتشاف العالم البريطانى سير الكسندر فلمنج عام ١٩٢٨ ، Fleming, Alexander ، فأثناء دراسته لنمو أنواع من البكتريا العنقودية *Staphylococcus* ، على بيئات غذائية فى الأطباق الزجاجية ، لاحظ فلمنج وجود تلوث من فطريات ، أفرزت بعض المواد التى أوقفت نمو البكتريا العنقودية ، عُزل الفطر، وتم التعرف عليه ، ووجد أنه *Penicillium notatum* ، وبعد ذلك عزلت المادة الفَعّالة المُفرَزة من ذلك الفطر ، وتم تنقيتها ، وعرفت بأسم البنسلين ، نسبة إلى اسم الفطر .

وأستعمل البنسلين بنجاح خلال الحرب العالمية الثانية فى علاج المرضى والجنود الجرحى والمصابين ، من التلوثات والأمراض المعدية المتسببة عن البكتريا الموجبة لصبغة جرام .

ثم تمكن بعد ذلك العالم الأمريكى سلمان واكسمان Waksman, Selman ومساعدوه عام ١٩٤٥ ، من اكتشاف المضاد الحيوى الثانى ، وهو الإستربتومايسين الذى تفرزه *Streptomyces griseus* ، ويستخدم هذا المضاد ضد البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام ، لأن تأثيره ذو مجال متسع Wide (Broad) spectrum ، وبعد ذلك الحين ، توالت إكتشافات المضادات الحيوية مثل التتراسيكلين والنستاتين ... وغيرها .

وأثناء الحرب العالمية الثانية ، نشأت صناعات جديدة استخدمت فيها الميكروبات من بكتريا وفطريات ، لانتاج مواد تستعمل كعلاج كيميائى Chemotherapeutic agents ، مثل المضادات الحيوية والهرمونات ، والآن فقد أصبح الكثير من الأمراض المعدية تحت السيطرة ، وذلك بفضل استخدام تلك المضادات .

ومنذ بدأت محاولات الانتاج التخميرى للمضادات الحيوية بإنتاج البنسلين فى أوائل الأربعينات من القرن الماضى ، فقد أخذت تكنولوجيا التخمرات فى التطور المستمر وبشكل سريع ، وقد شمل ذلك التطور تحسين البيئات المزرعية ، وتقدم طرق عزل وإنتخاب السلالات الميكروبية المناسبة ، وتطور طرق التخمير باستخدام المزارع المغمورة ، وانتاج أجهزة التخمير المزودة بكل وسائل التحكم ، وتطور طرق استخلاص وتنقية نواتج التخمر .

ونتيجة لهذا التطور فى تكنولوجيا التخمرات ، فقد تزايد إنتاج البنسلين ، كمثال لإنتاج المضادات ، من ١,٨ كجم عام ١٩٤٣ ، إلى حوالى ١٠ آلاف طن عام ١٩٨٢ ، فى بلد واحد كالولايات المتحدة. وبفضل هذا التطور ، فقد أصبحت الصناعات التخميرية الدوائية ، ذات أسس ثابتة ومستقرة ، لايحتمل أن تتأثر بالإنتاج التخليقى لمنتجاتها ، كما حدث لصناعات تخميرية أخرى ، مثل : الأسيتون ، والبيوتانول ، وحامض الأستيك ، وكحول الإيثانول .

وتعتمد اقتصاديات الانتاج ، على استعمال مخمرات ، لاتقل سعتها عن ١٠٠م^{3} ، مزودة بآلات تحكم بالغة الدقة ، مع استخدام أجهزة استخلاص عالية الكفاءة .

التركيب الكيميائى للمضادات الحيوية

المضادات الحيوية عبارة عن مواد كيميائية عضوية ، من أصل حيوى ، وهى قادرة فى تركيزات منخفضة من أن توقف نمو كائنات أخرى ، بتثبيط نموها أو بقتلها .

والمضادات الحيوية نواتج ثانوية Secondary metabolites من نواتج الأيض الغذائى لأنواع متعددة من الميكروبات ، من أهمها البكتريا والفطريات ، فبعد أن ينتهى طور النمو اللوغاريتمى للميكروبات ، تقوم تلك الميكروبات بتخليق المضادات كفضلات من نواتج عمليات الهدم الأيضى ، والمضادات وإن كانت غير ضرورية لحياة الخلية الميكروبية المنتجة لها ، إلا أنها ذات أهمية كبيرة فى نواحى أخرى ، كالعلاج .

ولتعدد المصادر الميكروبية المنتجة للمضادات ، ولإختلاف طرق الأيض الغذائى ، فإن المضادات الحيوية تختلف فى تركيبها الكيميائى ، ويوضح الشكل [١٢ (٤) – ٣] ، التركيب الكيميائى لبعض المضادات الحيوية ، والمجاميع الكيميائية التى تنتمى إليها .

الكائنات المجهرية والمضادات الحيوية

تلعب الكائنات المجهرية دوراً مميزاً فى إنتاج المضادات الحيوية ، فأكثر من ٨٥% من المضادات التى تم التعرف عليها ، تكونها الميكروبات ، إذ أن حوالى ٦٠% من المضادات ينتج من الأكتينوميسيتات ، و ١٠% من البكتريا ، و ١٠% من الفطريات ، والباقى من كائنات أخرى .

وتتباين الأحياء المجهرية فى تكوينها للمضادات ، فبعض الميكروبات تستطيع أن تفرز أكثر من نوع من المضادات ، مثل فطر *Aspergillus fumigatus* الذى يفرز كلاً من : Fumigacin, Fumigatin & Gliotoxin .

وهناك بعض المضادات ، التى يفرزها أكثر من ميكروب ، مثل البنسلين ، الذى يكونه كل من *Penicillium notatum, P. chrysogenum & Aspergillus flavus* .

وتستطيع المضادات ، أن تثبط ، أو تقتل الأحياء المجهرية ، ومدى تأثير المضادات فى ذلك يختلف ، فبعضها يؤثر على ميكروبات محددة ، وتسمى مضادات ذات مجال ضيق Narrow spectrum ، والبعض الآخر يؤثر على أنواع ميكروبية متعددة ، وتسمى مضادات ذات مجال متسع Wide (Broad) spectrum .

وتعتبر البنسلينات والتتراسيكلينات ، من أكثر المضادات استعمالاً فى الطب العلاجى ، ولذا ، فهى تشكل الإنتاج الأساسى العالمى من المضادات الحيوية ، وتتميز البنسلينات بإنخفاض سميتها ، لأن تأثيرها الفارماكولوجى ، يقتصر على منع تكوين جدر الخلية البكتيرية ، ولا تأثير لها على الخلايا الحيوانية .

أما تأثير التتراسيكلينات ، فيتركز فى التداخل فى أنظمة الخلية الحيوية ، ومنع تكوين بروتين خلية البكتريا ، ولها أيضا نفس التأثير ، بتركيزات أعلى ، على بروتين الخلايا الحيوانية ، ولذلك تكثر أعراضها الجانبية عند استخدامها فى العلاج .

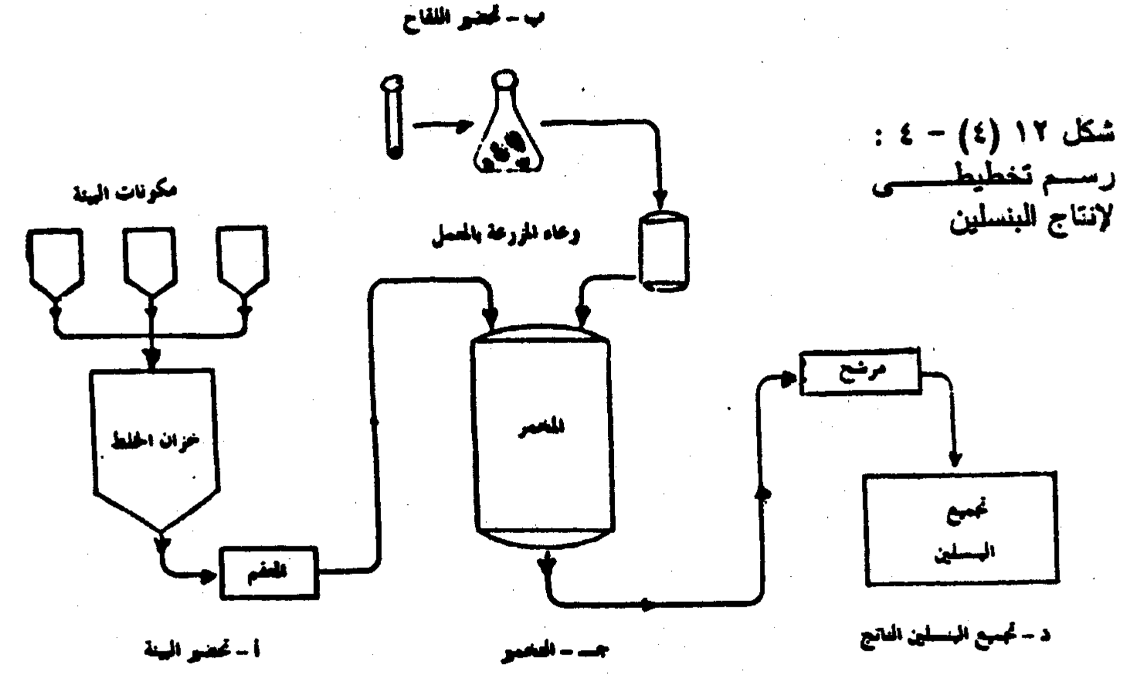
شكل ١٢ (٤) - ٣ : التركيب الكيميائى لبعض المضادات الحيوية الشائعة

- البوليمكسين B: مركب حلقى عديد الببتيدات ، يتكون من

DAB : diaminobutyric acid
Leu : Leucine
Phe : Phenylalanine
Thr : Threonine

البنسلين : Penicillin

تستخدم الكائنات الحية فى إنتاج المضادات الحيوية ، وتختلف الطرق الصناعية المستخدمة فى الإنتاج ، بإختلاف المضاد الحيوى المنتج ، وسنأخذ البنسلين كمثل لانتاج المضادات ، وشكل [١٢ (٤) - ٤] التالى ، يوضح خطوات إنتاج البنسلين .



شكل ١٢ (٤) - ٤ : رسم تخطيطى لانتاج البنسلين

ويراعى مايلى عند إنتاج البنسلين

أ - البيئة

تستخدم بيئة تحتوى على ، سائل منقوع الذرة (*) Corn steep liquor ، ولاكتوز ، وأملاح معدنية ، ومواد أخرى ممهدة Precursors (**) ، يضبط الـ ق يد عند ٥,٥ ، وتخلط البيئة ، وتعقم ، وتبرد ، وتضخ إلى المخمر .

(*) سائل منقوع الذرة Corn steep liquor

محلول داكن اللون شرابى القوام ، متخلف ثانوى فى صناعة النشا من الذره ، ورقمه الايدروجينى حوالى ٤,٠ ، به حوالى ٥٠% مادة صلبة، ويستعمل فى الصناعة بعد تعديل تركيبه وترشيحه ، وذلك كمصدر للكربون (به حوالى ٦% مقدره فى صورة جلوكوز) ، والنتروجين (به حوالى ٣-٤% نتروجين ، فى صورة أحماض أمينية وببتيدات) ، وكمصدر للمواد المنشطة للنمو مثل فيتامين ب المركب ، ، ويعتبر سائل منقوع الذرة من أفضل المصادر الغذائية لإنتاج المضادات الحيوية .

(**) مواد ممهدة Precursors

يضاف للبيئة ، مواداً ممهدة (مهيئة) ، لتحقيق الناتج المطلوب .

فهذه المواد ، تعمل كنقطة بداية فى تكوين المضاد ، وبذلك تشجع الفطر على زيادة إنتاج البنسلين . ويوجد من هذه المواد ، عدة مركبات منها Phenyl acetic acid, Phenyl acetamide, Phenoxy acetic acid ،

ويؤثر نوع المادة الممهدة المضافة للبيئة ، على نوع البنسلين المتكون .

ب - الفطر وبناء اللقاح

تستخدم سلالة نقية منتخبة من الفطر *Penicillium chrysogenum* ، لها القدرة العالية على الإنتاج .

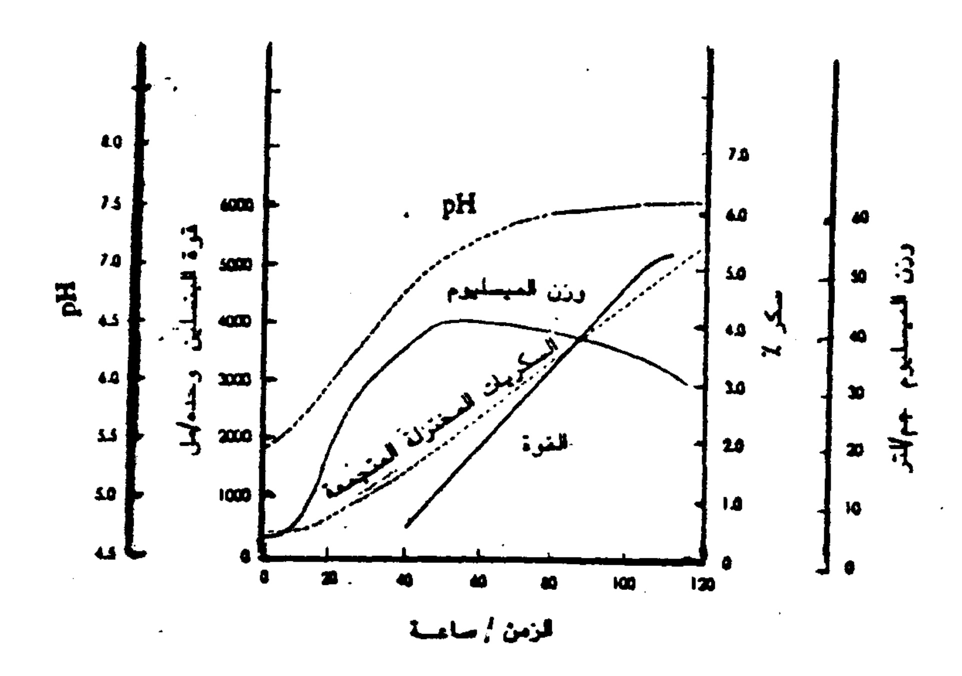
ولبناء اللقاح ، ينقل الفطر بعد التحضين ، من الأجار المائل إلى بيئة نخالة القمح ، ثم ينقل معلق جراثيم الفطر ، إلى وعاء معقم به بيئة التخمير ، وبذلك يتكون اللقاح الذى يستعمل لتلقيح المخمرات ، مع مراعاة تجنب التلوث أثناء بناء اللقاح وأثناء التخمير .

جـ - تلقيح بيئة المخمر ، والإنتاج

تلقح البيئة باللقاح بمعدل ٥% من حجمها ، ويتم الإنتاج بطريقة المزرعة المغمورة ، مع التهوية بهواء مضغوط معقم ، والتقليب خلال فترة التخمير . ويتم التخمير خلال عدة أيام ، على درجة ٢٢-٢٧°م .

ويوضح [شكل ١٢ (٤) - ٥] التغيرات البيوكيميائية التى تحدث بالمخمر أثناء الانتاج .

طريقة المزرعة المغمورة هى المستعملة الآن صناعياً فى الإنتاج ، فهى تعطى كمياتاً أكبر من البنسلين ، فى زمن أقصر ، وتحتاج لمساحات ومعدات أقل ، وذلك إذا ماقورنت بالطرق السطحية ، التى كانت متبعة قديماً ، فى الإنتاج .



شكل ١٢ (٤) - ٥ : التغيرات البيوكيميائية التى تحدث بالمخمر أثناء إنتاج البنسلين

د - تجميع البنسلين الناتج

بعد إنتهاء التخمير ، ترشح المزرعة لفصل الميسليوم ، ثم يؤخذ الراشح ويستخلص منه البنسلين بالمذيبات العضوية ، ثم ينقى بالترسيب ، وتعاد الإذابة والترسيب والترشيح ، ويركز البنسلين ، ويبلور ، ويجفف ، ويعبأ ، ويسوق .

الخواص والإستعمال

البنسلينات ، عبارة عن أملاح صوديوم أو بوتاسيوم ، لحامض 6-amino-penicillanic acid (نواة البنسلين) ، وتختلف البنسلينات فيما بينها ، حسب نوع مجموعة الـ Acyl ، المكونة للسلسلة الجانبية للحامض ، ويحدد هذه السلسلة فى البنسلينات الطبيعية نوع المادة الممهدة Precursor ، المضافة لبيئة التخمير . وقد أمكن أيضا ، بالمعالجة الكيميائية للبنسلين النقى الناتج من التخمير ، تغيير مجموعة الأسايل ، وإنتاج أنواع جديدة من البنسلينات ، ذات أهمية علاجية كبيرة ، كالأمبيسلين .

عموما ، فإننا نجد أن البنسلين المنتج تخميريا ، عبارة عن خليط من ستة أنواع ، وذلك حسب نوع السلسلة الجانبية لنواة البنسلين [شكل ١٢ (٤) – ٦] ، وأهم هذه الأنواع ، بنزايل البنسلين Benzyl penicillin ، وإسمه الشائع Penicillin G ، وهو المقصود عند ذكر كلمة بنسلين .

Penicillin core

6-Aminopenicillanic acid

بنسلين G

Penicillin G

Benzylpenicillin

بنسلين V

Penicillin V

Phenoxymethylpenicillin

بنسلين F

Penicillin F

Δ^2-Pentenylpenicillin

أمبيسلين

Ampicillin

6[D (—) α-Aminophenylacetamido]-penicillanic acid

شكل ١٢ (٤) – ٦ : بعض أنواع من البنسلينات

يتضح بالشكل نواة البنسلين الأساسية 6-amino penicillanic acid ، والسلاسل الجانبية التى تختلف من نوع لآخر ، وتعطى لكل نوع مميزاته الخاصة ، مثلا

بنسلين G : يستعمل حقنا تحت الجلد ، أو فى العضل ، وينتج بالتخمير

بنسلين V : يستعمل عن طريق الفم ، لأنه مقاوم لتأثير حموضة المعدة ، وينتج بالتخمير

الأمبيسلين : يستعمل عن طريق الفم ، لأنه مقاوم لحموضة المعدة ، وهو ذو مجال متسع ، وينتج بالتخليق الكيميائى

البنسلين قابل للذوبان فى الماء ، وهو يؤثر على البكتريا الموجبة لصبغة لجرام ، بتثبيطه للإنزيمات المسئولة عن ربط مكونات معقد الببتيدوجلوكان ، المكون لجدار خلية البكتريا وبذلك ، فإنه يوقف تكوين الجدار فى خلايا البكتريا حديثة التكوين ، التى تنفجر وتموت فى الوسط سوى الأسموزية Isotonic .

يمتاز البنسلين بقلة سميته لخلايا الإنسان والحيوان ، غير أنه يسبب حساسية شديدة لبعض الأشخاص ، كما يتكون نتيجة للعلاج الطويل بالمضادات ، سلالات من الميكروبات المرضية مقاومة للمضادات Resistant strains ، وهذه السلالات المقاومة ، تأتى نتيجة تكون طفرات جديدة مقاومة للمضادات ، أو نتيجة لوجود بلاز ميد (من النوع الذى يحمل عامل المقاومة R factor)، حيث يحمل هذا البلازميد ، الجينات التى تشفر لتكوين الإنزيمات التى تغير من تركيب المضاد ، فيفقد المضاد بذلك تأثيره كمضاد حيوى .

إنتاج المضادات الأخرى

تنتج المضادات الأخرى ، باستخدام طرق مشابهة لانتاج البنسلين ، وتتركز الاختلافات فى نوع الميكروب المستخدم فى الانتاج ، وتركيب البيئة ، وطرق استخلاص المضاد .

ويستعمل المنتجين نفس أجهزة تخمير البنسلين ، لانتاج أنواع مختلفة من المضادات .

طرق تأثير المضاد : Mode of action

يختلف تأثير المضادات الحيوية على الميكروبات ، بإختلاف نوع المضاد ، ومن هذه الناحية ، فإنه يمكن تقسيم المضادات حسب طريقة تأثيرها على الميكروبات ، الى المجاميع التالية

- مجموعة تثبط عملية تخليق الجدار الخلوى للخلية الميكروبية ، ومن أمثلة هذه المضادات

Penicillins, Bacitracin, Cephalosporins and Vancomycins.

- مجموعة تسبب ضرراً للغشاء السيتوبلازمى للخلية الميكروبية ، ومن أمثلة هذه المضادات

Amphotericin, Gramicidins, Griseofulvin, Nystatin, Polymixins and Tyrocidins

- مجموعة تثبط عملية تخليق البروتين والأحماض النووية بالخلية الميكروبية ، ومن أمثلة هذه المضادات

Chloramphenicol, Erythromycin, Streptomycin and Tetracyclines.

- مجموعة تثبط نظم انزيمية معينة بالخلية

ومن المركبات الكيميائية (وهى ليست مضاداتا حيوية) التى تؤثر على إنزيمات الخلية ، مجموعة السلفوناميدات Sulfonamides .

وجدول [١٢ (٤) - ١] يبين خواص واستعمالات بعض المضادات الحيوية .

جدول ١٢ (٤) - ١ : خواص وإستعمالات بعض المضادات المنتجة بواسطة الميكروبات

المجموعة الكيميائية	اسم المضاد الشائع (والتجارى)	الميكروب المنتج	الميكروبات المتأثرة	طريقة التأثير
Aminoglycosides	Streptomycin	*Streptopmyces griseus*	بكتريا جرام موجب ، جرام سالب ، والصامدة للأحماض	تثبيط عمل الرايبوسوم 50S
	Neomycin (Flavomycin)	*S. fradiae*	مثل الاستربتومايسين	تثبيط عمل الرايبوسوم 50S
	Kanamycin (Kantrex)	*S. kanamyceticus*	مثل الاستربتومايسين	تثبيط عمل الرايبوسوم 50S
B-lactams	Penicillins*	*Penicillium chrysogenum*	البكتريا الموجبة لجرام	منع تكوين جدار الخلية
	Ampicillin*	*P. chrysogenum*	البكتريا السالبة لجرام	منع تكوين جدار الخلية
Benzene derivative	Chloramphenicol** (Chloromycetin)	*S. venezuelae*	ذات مجال ميكروبى متسع بكتريا موجبة وسالبة ، وريكتسيا ، وبعض الفيروسات الكبيرة	تثبيط عمل الرايبوسوم
Cyclohexane	Cycloheximide (Actidione)	*S. griseus*	الفطريات المترممة	تثبيط تكوين DNA
Heterocyclio-oxygen compounds	Griseofulvin (Grifulvin)	*Penicillum griseofulvin*	الفطريات الممرضة	إتلاف الغشاء السيتوبلازمى
Microlides	Erythromycin (Erythrocin)	*Streptomyces erythraeus*	البكتريا الموجبة لجرام	تثبيط عمل الرايبوسوم 50S
	Carbomycin* (Magnamycin)	*S. halstedii*	البكتريا الموجبة لجرام	تثبيط عمل الرايبوسوم 50S
Phenazine	Pyocyanin	*Pseudomonas aerugin*	أنواع عديدة	تثبيط عملية التنفس (لايستعمل طبيا)
Polyenes	Amphotericin (Fungizone)	*S. nodosus*	*Candida* sp.	تثبيط عمل استرولات الغشاء السيتوبلازمى
	[illegible]statin	*S. noursei*	الفطريات الممرضة والكانديدا	تثبيط عمل استرولات الغشاء السيتوبلازمى
	[illegible]nagillin	*Aspergillus fumigatus*	بروتوززوا النوسنتاريا	تثبط نفاذية الغشاء السيتوبلازمى

*، ** أنظر الصفحة التالية

تابع جدول ١٢ (٤) – ١ :

المجموعة الكيميائية	اسم المضاد الشائع (والتجارى)	الميكروب المنتج	الميكروبات المتأثرة	طريقة التأثير
Polypeptides	Polymyxin G* (Aerosporin)	*Bacillus polymyxa*	البكتريا السالبة لجرام	إتلاف الغشاء السيتوبلازمى
	Bacitracin**+,	*B. subtilis*	البكتريا الموجبة لجرام	منع تكوين جدار الخلية
	Subtilin +	*B. subtilis*	البكتريا الموجبة لجرام	منع تكوين جدار الخلية
	Gramicidin *	*B. brevis*	البكتريا الموجبة لجرام	تثبيط الفسفرة التأكسدية
Tetracylines	Tetracycline ** (Achromycin)	*S. aureofaciens*	ذات مجال ميكروبى متسع بكتريا موجبة وسالبة وريكتسيا ، وبعض الفيروسات الكبيرة	تثبيط تكوين البروتين
	Oxytetracycline (Terramycin)	*S. rimosus*	بكتريا موجبة وسالبة وريكتسيا ، وبعض الفيروسات الكبيرة	تثبيط تكوين البروتين
	Chlortetracycline** (Aureomycin)	*S. aureofaciens*	بكتريا موجبة وسالبة وريكتسيا ، وبعض الفيروسات الكبيرة	تثبيط تكوين البروتين

• : كثير من هذه المضادات عبارة عن خليط لعدة أنواع ، مثل بنسلين F, G, K, V, X ، وبوليمكسين A, B, C, D

•• : تصنع هذه المضادات الآن بالتخليق الكيميائى

\+ : يستعمل هذا المضاد خارج الجسم ، لأن تأثيره الداخلى سام

تحول الاستيرويدات بواسطة الميكربات : Microbial conversions of steroids

الاستيرويدات مركبات دهنية من مجموعة الهيدروكربونات المشبعة ، وأساس تركيبها نظام كربونى رباعى الحلقات ، يحتوى على ١٧ ذرة كربون مرتبة فى أربعة حلقات مندمجة ، ويكثر وجود الاستيرويدات بالنبات والحيوان ، وغالباً ماتستعمل كمواد علاجية .

ويقع ضمن الاستيرويدات ، فيتامين د ، والاستيرولات Sterols ، وبعض الهرمونات ، والأحماض الصفراوية ، والسموم .

والاستيرولات Sterols معناها كحولات صلبة ، وهى نواتج كحولية من الاستيرويدات Steroids ، وللاستيرولات سلسلة جانبية طويلة ومجموعة كحول ، وتوجد الاستيرولات فى الحالة الحرة ، أو على هيئة استرات أحماض دهنية ، ويمكن الحصول على الاستيرولات فى حالة متبلورة . ومن أمثلة الاستيرولات الكولسترول والكورتيزون .

يحتوى جزىء الأستيرول على أربع حلقات كربونية ، غير عطرية ، أحادية الهيدروكسيل (OH-) ، ويعتبر الكولسترول $C_{27}H_{45}$ - OH ، مثلا لعدد كبير من الاستيرولات من ناحية التركيب الكيميائى والأساس البنائى [شكل ١٢ (٤) – ٧] ، فهو يحتوى على نواة مشبعة من الفينانثرين Phenanthrene • [عدا الرابطة التى بين ذرة ك٥ وذرة ك٦ ، فهى غير مشبعة (زوجية)] ، متكثفة مع حلقة خماسية مشبعة فى الوضع ٢:١ ، كما يحتوى الكولسترول على مجاميع جانبية .

ويوضح الشكل [١٢ (٤) – ٧] تركيب بعض المواد الاستيرويدية

cholesterol

testosterone

cortisone

شكل ١٢ (٤) – ٧ : تركيب بعض المواد الاستيرويدية

- الكولسترول Cholestrol ، ٢٧ ذرة كربون
- التستوسترون Testosterone ، ١٩ ذرة كربون (من هرمونات الثدييات)
- الكورتيزون Cortisone ، ٢١ ذرة كربون (من هرمونات الثدييات)

ويعتبر الكولسترول ، المادة الممهدة لتخليق كل من التستوسترون والكورتيزون

• الفينانثرين ، مشابه Isomer للانثراسين (مركب ذو ثلاث حلقات مندمجة)

تنتج الهرمونات الاستيرويدية Steroid hormones من الثدييات ، ولكن الكميات المنتجة من تلك المصادر الحيوانية كميات قليلة لاتكفى الطلب عليها ، مما دفع المنتجون إلى تخليق الهرمونات من الاستيرولات النباتية ، لتوفرها وسهولة انتاج المشتقات الاستيرويدية منها.

انتاج المشتقات الاستيرويدية والاستيرولات النباتية بطريقة كيميائية ، عملية صعبة وتحتاج لخطوات عديدة ، ولكن باجراء تحولات فى بعض المجاميع الكيميائية للاستيرول ، فإن ذلك يُسّهل من انتاج الاستيرويد المطلوب ، وتتم تلك التحولات بواسطة الكائنات المجهرية كالبكتريا والفطريات . وعلى سبيل المثال ، فإن انتاج الكورتيزون كيميائيا يحتاج الى أكثر من ٣٠ خطوة ، ولكن بإجراء عمليات التحول البيولوجى على المركب فى البداية ، فإن خطوات الانتاج تختصر الى ١٣ خطوة فقط .

والشكل [١٢ (٤) - ٨] يبين النظام الحلقي للاستيرويد ، وأرقام وأعداد ذرات الكربون الداخلة فى التركيب ، والأماكن المتخصصة بالحلقة التى تحدث عندها عمليات التحول الكيميائى Conversion ، بواسطة الكائنات الدقيقة كالبكتريا والفطريات ، وهى عمليات بيولوجية على درجة عالية من التخصص ، وبإجراء عملية التحول الكيميائى ، فإنه يسهل انتاج مشتقات الاستيرويد المطلوبة ، كالكورتيزول Cortisol والهيدروكورتيزون Hydrocortisone .

ومن أمثلة التحولات البيولوجية التى تتمْ بالاستيرويدات ، قيام الفطر *Rhizopus* بإضافة مجموعة هيدروكسيل (Hydroxylation) على ذرة الكربون رقم ١١ ، وقيام بكتريا *Corynebacterium* بنزع ذرتى كربون (عملية عدم تشبع Desaturation) ، تاركة رابطة زوجية بين ذرتى الكربون رقم ١ ، ٢ .

شكل ١٢ (٤) - ٨ : النظام الحلقى الاستيرويدى ، موضحا لأرقام ذرات الكربون ، وعددها ، والأماكن المتخصصة بالحلقة التى يحدث عندها التحول الكيميائى بتأثير الميكروبات ، والتى منها :

- إضافة مجموعة هيدروكسيل عند الذرة رقم ١١
- تكوين رابطة غير مشبعة (زوجية) ، بين ذرة رقم ١ وذرة رقم ٢ .

استخدام الميكروبات فى التقديرات الحيوية : Bioassays

فى هذه التقديرات ، سواء الكمية أو النوعية ، تستخدم الميكروبات لإجراء الإختبارات الحيوية المطلوبة ، مثل تلك التقديرات الخاصة بتقدير الفيتامينات والأحماض الأمينية والمضادات الحيوية .

ويبين الجدول [١٢ (٤) - ٢] بعض الكائنات المجهرية المستخدمة فى التقديرات الحيوية .

جدول ١٢ (٤) - ٢ : كائنات دقيقة تستخدم فى التقديرات الحيوية

الكائن الدقيق	المادة المختبرة
بكتريا	
Lactobacillus casei	الحامض الأمينى الثيامين والبيوتين
L. plantarum	الحامض الأمينى النياسين
Streptococcus faecalis	عدد من الأحماض الأمينية
Proteus vulgaris	حامض النيكوتينيك
خميرة	
Saccharomyces carlsbergensis	حامض البانتوثيك
فطر	
Neurospora crassa	البيوتين والبيرودوكسين
طحالب	
*Ochromonas malhamensis**	فيتامين ب ١٢
بروتوزوا	
Tetrahymena geleii	حامض الفوليك

* طحلب حقيقى النواة ، يتبع مجموعة الطحالب الذهبية Chrysophyceae ، وهو طحلب وحيد الخلية ، بدون جدار صلب ، له سوطين بالطرف ، غير متساويين .

وعادة فإن التقديرات الحيوية أكثر تخصصا من التقديرات الكيميائية ، كما أنها أسهل فى إجرائها ، وبالتقديرات الحيوية يمكن تقدير الآثار البسيطة من المادة ، التى يصعب تقديرها بالطرق الكيميائية .

وعند إجراء التقديرات الحيوية الخاصة بعوامل النمو كالأحماض الأمينية والفيتامينات وغيرها ، تحضر البيئة المحتوية على كل المكونات الغذائية اللازمة لنمو الميكروب المختبر ، ماعدا المادة المراد تقديرها كميا . وإذا أضيفت هذه المادة بكميات ضئيلة الى البيئة ، فإن الميكروب المختبر ينمو بدرجة تتناسب طرديا مع الكمية المضافة من مادة النمو .

ومن النتائج المتحصل عليها يتم عمل منحنيات قياسية تربط بين كمية عامل النمـــو الموجــودة بالبيئة ، وبين كمية النمو الميكروبى ، ومن هذه المنحنيات القياسية ، يمكن معرفة كمية عـــامل النمو الموجودة بالبيئة المختبرة .

ومن التقديرات الحيوية الخاصة بتقدير قوة المضادات الحيوية ، مايعرف بطريقة الأنـــابيب Tube method. وفى هذه الطريقة ، تلقح البيئة بميكروب الاختبـــار مثـــل *Staphylococcus aureus* عند تقدير قوة البنسلين ، و *E. coli* عند تقدير قـــوة الاستربتومايســـين ، و *Sarcina lutea* عند تقدير قوة الكلورامفنيكول ، وتُصب البيئة بالأطباق .

وبعد أن يجف الطبق ، يوضع به أنابيب خزفية صغيرة مفتوحة الطرفين ، وتوضع بكل أنبوبـــة كميات محددة من محلول المضاد ، معلومة القوة تحتوى على وحدات متزايدة ، وتترك أنبوبـــة يوضع بها محلول المضاد المراد اختبار قوته ، وبعد التحضين يقاس قطـــر الهالـــة المســـتديرة الخالية من النمو البكتيرى ، حول كل أنبوبة .

ومن النتائج المتحصل عليها ، يتم عمل رسم بيانى ، يوضح فيه الاحداثى الرأسى قطر الهالـــة ، والاحداثى الأفقى وحدات المضاد الحيوى المعلومة القوة ، ومنها يمكن معرفـــة قـــوة المضـــاد الحيوى المراد إختباره .

مراجع الباب الثانى عشر References

مراجع عربية

الشحات محمد رمضان طه ، راوية فتحي جمال (٢٠٠٥) . ميكروبيولوجيا التخمـوات - دار الفكر العربى ، ٩٤ شارع عباس العقاد ، مدينة نصر ، القاهرة .

جابر زايد بريشه ، عادل محمود حماد ، عبد الوهاب محمد عبد الحافظ (٢٠٠٢) . أساسيات الميكروبيولوجيا الصناعية - الدار العربية للنشر والتوزيع - مدينة نصر - القاهرة .

حسن خالد حسن العكيدى (٢٠٠٠) . التقنية الحيوية والميكروبيولوجـى الصنـاعى - دار زهران للنشر والتوزيع - عمان - الأردن .

سعد على زكى محمود (١٩٩٨) . الميكروبيولوجيا التطبيقيـة العمليـة - مكتبـة الأنجلـو المصرية ، شارع محمد فريد (عماد الدين) ، القاهرة .

سعد على زكى محمود ، عبد الوهاب محمد عبد الحافظ ، محمـد الصـاوى محمد مبـارك (١٩٩٧) . ميكروبيولوجيا الأراضى - مكتبة الأنجلو المصرية ، شارع محمـد فريـد ، القاهرة .

عبد الوهاب محمد عبد الحافظ ، محمد الصاوى محمد مبارك (ترجمـة) (١٩٨٩) . الأحيـاء الدقيقة عمليا ، تأليف سيلى وفان ديمارك - الدار العربية للنشر والتوزيع ، مدينة نصـر - القاهرة .

عبد الوهاب محمد عبد الحافظ ، محمد الصاوى محمد مبـارك (١٩٩٦) . الميكروبيولوجيـا التطبيقية - المكتبة الأكاديمية ، ١٢١ شارع التحرير ، الدقى ، القاهرة .

عبد الوهاب محمد عبد الحافظ ، محمد الصاوى محمد مبـارك (١٩٩٩) . أساسـيات نقـل التكنولوجيا - مركز التعليم المفتوح ، كلية الزراعة جامعة عين شمس ، شـبرا الخيمـة ، القاهرة .

عبده السيد شحاته (١٩٩٧) . تكنولوجيا الجبن - المكتبة الأكاديمية ، ١٢١ شارع التحرير ، الدقى ، القاهرة .

عبده السيد شحاته (١٩٩٩) . أمراض ناتجة عن الغذاء - المكتبة الأكايميـة ، ١٢١ شـارع التحرير ، الدقى ، القاهرة .

محمد الصاوى محمد مبارك (٢٠٠٣) . معجم المصطلحات العلمية فى الأحياء الدقيقة والعلوم المرتبطة بها - مكتبة أوزوريس ، ٥٠ شارع قصر النيل ، القاهرة .

مصطفى كمال أبو الدهب ، حسين محمد الكشير ، سيد أحمد القزاز ، عالية عبد الباقى شـعيب (١٩٩٧) . علم البكتيرات ، دار المعارف ، القاهرة .

مراجع إنجليزية

Adams M.R. and M.O. Moss (2000). Food Microbiology, 2nd Ed. Royal Society of Chemistry, London.

Alexander M. (1977). Introduction to Soil Microbiology, 2nd Ed. John Wiley and Sons, Inc., New York.

Atlas R.M. and R. Bartha (1987). Microbial Ecology, Fundamentals and Applications. Addison. Wesley Pub., Reading, MA, USA.

Crueger W. and A. Crueger (1982). Biotechnology. Sinauer Associates Inc., Sunderland, Maryland, USA.

Csuros Maria and C. Csuros (1999). Microbiological Examination of Water and Wastewater. Lewis Publishers, New York.

Egorov N.S. (1985). Antibiotics - A Scientific Approach. Mir. Puplishers, Moscow.

Foster, E.M.; F.E. Nelson; M.L. Speck; R.N. Doetsch and J.C. Olson (1961). Dairy Microbiology. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, N.J., USA.

Frazier W.C. and D.C. Westhoff (1978). Food Microbiology, 3rd Ed. McGraw-Hill Book Co., Inc., New York.

Gibson D.T. (ed.) (1984). Microbial Degradation of Organic Compounds. Marcel Decker Inc., New York.

Lederberg J. (ed.) (1992). Encyclopedia of Microbiology. Academic Press, San Diego, USA.

McFeters G.A. (ed.) (1990). Drinking Water Microbiology. Springer-Verlag, New York.

Pelczar M.J.Jr.; E.C.S. Chans and N.R. Krieg (1986). Microbiology. McGraw-Hill Book Co. Inc., New York.

Reed G. (ed.) 1982). Prescott and Dunn's Industrial Microbiology. AVI Publishing Co. Inc., Westport, Conn., USA.

Rheinheimer G. (1980). Aquatic Microbiology. 2nd Ed. John Wiley and Sons Inc., New York.

Rose A.A. (ed.) (1982). Economic Microbiology, Academic Press, New York.

Schlegel H. (1995). General Microbiology. Cambridge Univ. Press. New York.

Subba Rao, N.S. (1982). Advances in Agricultural Microbiology. Oxford & IBH Publishing Co., New Delhi, India.

Underkofler L. and C. Nash (eds.) (1984). Developments in Industrial Microbiology. Soc. Industrial Microbiology, Arlington, Va., USA.

Waksman S.A. (1967). The Actinomycetes. The Ronald Press, New York.

Watkinson R.J. (ed.) (1978). Development of Biodegradation of Hydrocarbons. Applied Science Puplishers Ltd., London.

(الباب الثالث عشر)
الميكروبـــــات وأمراض الإنسان

المحتويـــات

المحتويات

المحتويات

الموضوع		الصفحة

«الباب الثالث عشر»
الميكروبات وأمراض الإنسان
Microbes and Diseases of Man

الانسان والأمراض

يعتبر الانسان عائلاً لكثير من الفيروسات والبكتريا والفطريات والبروتوزوا المرضية، كما أنه عرضة للإصابة بالميكروبات التى تعيش طبيعيا على الجلد وعلى الإغشية المخاطية ، وذلك عند إنخفاض قدرات الجسم المناعية .

وتختلف خواص الطفيليات التى تسبب المتاعب للعائل ، بإختلاف المجموعة التصنيفية التابعة لها ، على سبيل المثال ، فإنه بالنسبة لمعظم عدوى البكتريا ، فإننا نجد أن التوكسينات تلعب دوراً هاماً فى إحداث المرض ، بينما يقل أو يندر حدوث ذلك فى حالة عدوى الفطريات والبروتوزوا ، كما أن لكل مجموعة ميكروبية طريقتها المميزة فى إحداث المرض ، وفى إثارتها لتفاعلات الحساسية .

ويختلف أيضا تأثير عوامل الجسم المناعية على الميكروبات ، بإختلاف أنواع هذه الميكروبات ، فنجد أن الأجسام المضادة فى الجسم ، تلعب دوراً هاماً فى الدفاع ضد البكتريا المرضية ، ولقد وجد أن الأفراد الذين يعانون من نقص فى إنتاج الأجسام المضادة ، لهم قابلية عالية لإصابة الجهاز التنفسى بالبكتريا الموجبة لصبغة جرام .

وتقل أهمية الأجسام المضادة فى دفاع الجسم ضد الميكروبات ، فى حالة الإصابة بالفيروسات والفطريات ، وتلعب المناعة الخلوية [1] Cell-mediated immunity ، دوراً أساسيا فى مقاومة الأمراض الفيروسية والفطرية ، ولقد وجد أن الأفراد الذين يعانون من نقص فى وظيفة الخلايا التائية T-cells [2] ، يكون لهم قابلية عالية للإصابة بالفيروسات والفطريات ، بالإضافة إلى البكتريا التى تعيش داخل خلايا الجسم ، كبكتريا السل وبكتريا البروسيلا .

وسوف نتناول فى الصفحات التالية بإختصار ، أهم أنواع الميكروبات والبكتريا المرضية التى تصيب الانسان ، والعلاقات المتبادلة بين العائل والميكروب المسبب للمرض .

(١،٢) استجابة مناعية بواسطة الخلايا Cell-mediated immunity response ، استجابة مناعية تحدث بالجسم ضد ميكروب معين، يحفز انتاجها خلايا ليمف T ، المعروفة بالخلايا التائية T-lympocyte cells, T-cells، وسميت هذه الخلايا بالخلايا التائية T-cells ، لأنه عقب انتاج هذه الخلايا بنخاع العظام ، فإنها تمر على الغدة الثيموسية Thymus (T) .

الأمراض البكتيرية : Bacterial diseases

يختلف نوع المرض بإختلاف البكتريا المسببة ، كما تختلف وسيلة إنتقال البكتريا الممرضة ، ومنافذ دخولها بالجسم وخروجها منه Portal of entry and exit ، بإختلاف النوع البكتيرى الممرض ، ومن هذه الزاوية ، يمكن تقسيم الأمراض البكتيرية إلى

أولاً : أمراض تنتقل عن طريق الرذاذ المستنشق

Diseases transmitted by droplet's exhalation

تنتقل أمراض الجهاز التنفسى عن طريق عدوى الرذاذ Droplets infection ، حيث تخرج البكتريا المرضية من الشخص المصاب أثناء الكلام أو التمخط أو الكحة ، فى صورة قطيرات لعابية دقيقة ، وتحتوى كل قطيرة على كمية قليلة من البروتين الذائب ، بالإضافة إلى أعداد مختلفة من الميكروبات التى تعيش فى الفم والقناة التنفسية ، ويتبخر ماء القطيرات بسرعة تاركا فى الهواء أعداداً كبيرة من القشور flakes الدقيقة الحاملة للبكتريا الحية ، وتدخل هذه البكتريا الى جسم الشخص السليم عن طريق جهازه التنفسى .

وتنتشر أمراض الجهاز التنفسى بسرعة فائقة بين الأفراد ، فعلى سبيل المثال فإن فيروس الأنفلونزا ينتشر من شخص إلى عدة ملايين من الأفراد فى فترة لاتتجاوز ٦ الى ٨ أسابيع .

والجدول (١٣-١) يبين بعض المسببات البكتيرية الهامة لأمراض الجهاز التنفسى ، والتى تنتقل عن طريق الهواء .

جدول ١٣-١ : بعض الأمراض البكتيرية التى تصيب الإنسان ، وتنتقل عن طريق الهواء .

١- الدفتريا - الخناق Diphtheria[1]

المسبب Etiological agent	تولد المرض Pathogenesis	الوقاية والعلاج
Corynebacterium diphtheriae ويعرف الميكروب أيضا باسم Klebs-Loeffler bacillus نسبة إلى إسمى مكتشفى المسبب المرضى - الميكروب متعدد الأشكال ، فى تجمعات - يكون حبيبات ميتاكروماتين - موجب لصبغة جرام - غير متجرثم ، غير متحرك - إختيارى للهواء - مخمر للسكريات ، وينتج حامض بروبيونيك	- يستقر الميكروب بالزور ، وتظهر الأعراض بعد ٢-٥ أيام من الإصابة ، كالتهاب موضعى ، وحمى . - ثم ينسد الزور بسبب تكون أنسجة ميتة وإفرازات تتجمع ، وتمنع مرور هواء التنفس . - ويحدث إختناق ، خاصة بين الأطفال - يفرز الميكروب توكسين خارجى ، يسير مع الدم إلى كل أجزاء الجسم ، مسببا حالة تسمم غير رجعى	الوقاية - تحصين الأطفال باللقاح الثلاثى DPT [2] vaccine (ضد الدفتريا ، والسعال الديكى والتتانوس) ، ثلاث جرعات ، بعد عمر شهرين ، وبين الجرعة والأخرى من شهر إلى شهرين ثم إعطاء جرعة تنشيط للطفل عند دخوله المدرسة العلاج : إستخدام : - مضاد التوكسين - المضادات الحيوية مثل البنسلين والإستربتومايسين

(١) تمثل الدفتريا وأمراض البكتريا السبحية ، الأمراض المنقولة بالهواء والتى تصيب الجهاز التنفسى العلوى ، ولو أنها أحيانا قد تصيب أجزاء أخرى بالجسم .

(٢) لقاح DPT لقاح ثلاثى خليط ، مكون من توكسويد [3] الدفتريا Diphtheria, D ، ولقاح السعال الديكى Pertussis vaccine. P ، وتوكسويد التتانوس Tetanus, T .

(٣) التوكسويد عبارة عن توكسين فقد سميته ولكن احتفظ بقدرته الأنتجينية ، ويحضر التوكسويد بإضافة ٠,٣% فورمالين إلى التوكسين . ويستعمل التوكسويد كلقاح لمقاومة التوكسين (السم) .

تابع جدول ١٣-١ :

٢- العدوى بالبكتريا السبحية Streptococcal infections

المسبب Etiological agent	تولد المرض Pathogenesis	الوقاية والعلاج
Streptococcus pyogenes, β. hemolytic - كروى فى سلاسل (سبحى) - موجب لصبغة جرام - غير متجرثم ، غير متحرك ، لايكون كابسول - محب لكمية قليلة من الأكسجين - مخمر للسكريات ، ذاتى التخمر ، مع إنتاج حامض لاكتيك - لايتحلل الميكروب فى وجود أملاح الصفراء - الأنواع الممرضة ، تفرز Hemolysin ، وهى بكتريا محللة لكرات الدم الحمراء تحللاً كاملاً ، وتكون هالة رائقة حول المستعمرات النامية على بيئة أجار الدم ، بمعنى أن البكتريا الممرضة من النوع بيتا	- يسبب إلتهاب الزور Pharyngitis - ويسبب إلتهاب اللوز Tonsilitis - يلى ذلك حدوث إلتهابات روماتزمية ، وتلف لكثير من الأنسجة الضامة بالمفاصل ، وأنسجة القلب - وبالإضافة إلى ذلك ، فإن الأنواع المفرزة للسموم المسببة للإحمرار Erythrogenic toxins تسبب طفحا أحمرا على الجلد ، وحمى قرمزية Scarlet fever - الأنواع القيحية Pyogenic تسبب التهابات بالجلد ، وعدوى ثانوية بالجروح	الوقاية لايوجد حتى الآن طرقا فعالة للتحصين العلاج إستخدام المضادات كالبنسلين والأستربتومايسين

تابع جدول ١٣-١ :

٣- السل [1] - الدرن Tuberculosis

المسبب Etiological agent	تولد المرض Pathogenesis	الوقاية والعلاج
Mycobacbacterium tuberculosis - عصوى منحنى ، غالبا مفرد ، وأحيانا فى تجمعات - موجب لصبغة جرام ، صامد للأحماض - غير متجرثم ، غير متحرك - لايكون كابسول - هوائى حتمى	- مرض مزمن ، يستمر لفترة طويلة - يصيب أنسجة متعددة بالجسم ، ولكن الرئتين هما الأكثر تعرضا - يتكاثر الميكروب داخل وخارج خلايا العائل ، مكونا درنات Tubercles ، تضم الميكروب وتحميه - فى بعض الحالات ينتشر الميكروب بالجسم مع الدم - يسبب المرض كحة ، وآلاما بالصدر ، وضعفا عاما بالجسم ، مع بصاق مخلوط بالدم أحيانا - بالإضافة إلى إنتقال الميكروب عن طريق الرذاذ والبصاق ، فقد ينتقل مع لبن الحيوان المصاب	الوقاية - رفع مستوى المعيشة - مراعاة الشروط الصحية العامة - بسترة اللبن - التحصين بجرعة واحدة داخل الجلد ، باللقاح المحضر من سلالة بكتيرية موهنة ، معزولة من البقر ، وتسمى باسم مكتشفيها Bacillus of Calmette and Guerin (BCG) - فحص العائلة الموجودة بها المصاب ، وعزل المريض العلاج - الراحة ، والتغذية الجيدة - مع علاج كيميائى مثل Streptomycin, P-amino salycilic acid, Iso nicotinic acid hydrazide

[1] يمثل السل الأمراض المنقولة بالهواء ، والتى تصيب الجهاز التنفسى السفلى

تابع جدول ١٣-١ :

٤- الإلتهاب الرئوى Pneumococcal pneumonia

المسبب Etiological agent	تولد المرض Pathogenesis	الوقاية والعلاج
Streptococcus pneumoniae, α-hemolytic Formely called, *Diplococcus pneumoniae* Commonly called, Pneumococcus - يضم النوع أكثرمن ٨٠ سلالة ، ويميز بينها سيرولوجياً بإختبار إنتفاخ الكابسول المسمى Quellung reaction* ، فـــى وجـــود الأنتسيروم المتخصص . - كروى فى أزواج ، موجب لصبغة جرام - غير متجرثم ، غير متحرك ، له كابسول - إختيارى للهواء - مخمر للسكريات ، ذاتى التخمر ، مع إنتـاج حامض لاكتيك - يتحلل الميكروب فى وجود أملاح الصفراء - يحلل كرات الدم الحمراء جزئيا ، فيكـــون هالة لونها أخضر حول المستعمرات النامية على بيئة أجار الـــدم ، أى أن الميكـــروب الممرض من النوع ألفا ، ويسمى Viridans	توجد هذه البكتريا طبيعياً بـــالزور ، وعندمـا تضعف مقاومة الجسم ، للإصابة مثلاً بعـدوى فيروسية ، فإن الميكروب يصل للرئة ، ويسبب الإلتهاب الرئوى وتعود ٩٥% من حالات إلتـهاب الفصـوص الرئوية الفصيـــة Lobar pneumoniae إلـى بكتريا *Streptococcus pneumoniae* - يسبب المرض حمى ، وأزمة تنفسية ، وآلاما شديدة بالصدر يشارك فى إحداث المرض ، - *Klebsiella pneumoniae* - *Haemophilus influenzae* - والميكروب الأخير ، يحتاج فى نمـوه إلـى وجود فيماتين ومغذيات خاصة - كلاً من الميكروبين ، عصوى قصير ، سالب لصبغة جرام ، غير متجرثم ، غير متحرك	الوقايـــة لايوجد حتى الأن طرقاً فعالة للتحصين ، بسبب تعدد السلالات المسببة للمرض العـلاج المضادات كالبنسلين

* تفاعل الانتفاخ Swelling reaction, Quellung reaction

تفاعل سيرولوجى يحدث بين أنتجن كابسول البكتريا ومضاد الأنتجن المتخصص ، ويسبب التفاعل انتفاخ كابسول البكتريا .

ويستخدم هذا التفاعل لتمييز النوع السيرولوجى الممرض من بكتريا الاستربتوكوكاى المسببه للالتهاب الرئوى .

وقد يسمى التفاعل أيضاً بأسم تفاعل نيوفلد ، نسبة الى اسم العالم الألمانى Neufeld F. ، الذى أجرى لأول مرة هذا التفاعل ، وبين أهميته .

تابع جدول ١٣–١ :

٥– الالتهاب السحائي Meningitis

المسبب Etiological agent	تولدالمرض Pathogenesis	الوقاية والعلاج
Neisseria meningitidis Commonly called Meningococcus – كروى صغير فى أزواج ، سالب لصبغة جرام – غير متجرثم ، غير متحرك – لايكون كابسول – ينمو فى وسط هوائى فى وجود حوالى ١٠٪ CO_2	ينتقل الميكروب مع الدم من البلعوم الأنفى ، إلى الغشاء المغلف للمخ والحبل الشوكى ، حيث يستقر ، ويسبب عدوى حادة ، تنتهى بالموت غالبا	**الوقاية** تجنب المرضى وحاملى الميكروب التحصين باللقاح **العلاج** المضادات كالبنسلين

٦– السعال الديكي – الشاهوق Whooping cough

المسبب	تولد المرض	الوقاية والعلاج
Bordetella pertussis – عصوى قصير ، سالب لصبغة جرام – غير متجرثم ، غير متحرك – لايكون كابسول – هوائى	– مرض شديد العدوى ، يصيب الأطفال وعادة فى السنة الأولى من العمر – يتميز المرض بحدوث سعال متكرر فى شكل نوبات تنتهى بشهقة تشبه صوت الديك – قد تحدث مضاعفات مثل الإلتهاب الرئوى	**الوقايـــة** تحصين الأطفال باللقاح الثلاثى DPT (دفتريا ، سعال ديكى تتانوس) (انظر الدفتريا ، ص ١٠٣٣) **العلاج** : الإرثرومايسين

٧ – الالتهابات التنفسية والأنفلونزا Influenza

المسبب	تولد المرض	الوقاية والعلاج
Haemophilus influenzae – عصوى قصير سالب لصبغة جرام – غير متجرثم ، غير متحرك – يحتاج فى نموه الى توفر مادتى الهيماتين ، وليكوتين أميد نيوكليوسيد	– يصيب الجهاز التنفسى خاصة فى الأطفال – يشارك فى إحداث مرض الالتهاب الرئوى	**الوقاية والعلاج** انظر الالتهاب الرئوى ، ص ١٠٣٦

ثانيا : أمراض تنتقل عن طريق الأغذية والمياه : Foodborne and waterborne diseases

تنشأ هذه الأمراض ، بسبب ميكروبات تنتقل مع الغذاء أو مياه الشرب ، فتدخل الميكروبات إلى العائل ، عن طريق الفم مع الغذاء والمياه ، وتخرج منه عن طريق الأمعاء مع المخلفات ، فالقناة الهضمية موطن طبيعي لعدد كبير من الميكروبات ، أكثرها مفيد أو غير ضار ، ولكن بعضها شديد الإمراض يسبب أمراضا مثل التيفود ، والكوليرا ، والدوسنتاريا .

وهذا يعني ، أن المخلفات البرازية ، للمرضى وحاملي الميكروب ، تحمل معها الميكروبات المرضية ، وإذا مالوثت هذه المخلفات ، الغذاء أو مياه الشرب ، مباشرة أو عن طريق التداول ، أو بالحشرات كالذباب ، فإن الميكروبات الملوثة ، تنتقل إلى أفراد جدد . ويظهر المرض على الفرد عند تناوله لغذاء ملوث بعدد كبير من تلك الميكروبات .

يحدث المرض من الميكروبات المنقولة مع الغذاء ، أو المياه ، بطريقتين

- **العدوى Infection**

وهنا يحدث المرض ، نتيجة العدوى بالميكروب الممرض ، كما يحدث عندما تنتقل البكتريا المسببة للتيفود مع الغذاء ، إلى العائل ، وتمرضه .

- **التسمم Poisoning, Intoxication**

وهنا يحدث المرض ، نتيجة للسموم التي يفرزها الميكروب أثناء وجوده بالغذاء ، كما يحدث عند تناول غذاء به سم البكتريا العنقودية ، فتظهر أعراض التسمم الغذائي على العائل .

إضافة إلى ذلك ، فإن الكثير من الماشية والطيور المصابة بأنواع من بكتريا السالمونيلا ، تسبب للإنسان تسمماً غذائياً عندما يتناول لحوم وألبان هذه الماشية ، أو لحوم وبيض تلك الدواجن .

والجدول (١٣-٢) يبين بعض الأمراض التي تصيب الإنسان ، وتنتقل عن طريق الأغذية والمياه (سببها عدوى ميكروبية) .

والجدول (١٣-٣) يبين بعض الأمراض التي تصيب الانسان ، وتنتقل عن طريق الغذاء (سببها سم ميكروبي ، أي تسمم غذائي) .

جدول ١٣-٢ : بعض الأمراض التى تصيب الإنسان ، وتنتقل عن طريق الغذاء ، وسببها عدوى ميكروبية *

١- حمى التيفود Typhoid fever

المسبب	تولد المرض	الوقاية والعلاج
Salmonella typhi (S. typhosa) *Salmonella paratyphi*	- يزداد إنتشار المرض فى الأماكن التى لاتراعى الشروط الصحية	**الوقاية** - مراعاة الشروط الصحية ومقاومة الذباب
- عصوى قصير ، مفرد ، سالب لصبغة جرام	- يتكاثر الميكروب بداخل الخلايا أولاً ، وبالقنوات المرارية والمصارين ، ثم ينتشر مع الدم لكل أجزاء الجسم	- عزل مخلفات المجارى عن مياه الشرب
- غير متجرثم		- منع المرضى وحاملى الميكروب من التعامل مع الأغذية
- متحرك بأسواط محيطية	- قد يُكوِّن الميكروب بؤرا فى الرئة والحوصلة المرارية والطحال ولخاع العظام	- التحصين باللقاح ، ويعطى اللقاح مناعة لعدة أشهر
- إختيارى للهواء	- تظهر الأعراض بعد أسبوعين من الإصابة ، كعدوى شديدة	
- خليط التخمر للسكريات		**العلاج**
- لايخمر سكر اللاكتوز	- يسبب المرض حمى شديدة وصداع ، وطفح بالجسم ، مع إسهال وقيىء	إستخدام الكلورامفنيكول
- يفرق بين السلالات المختلفة ، سيرولوجيا عن طريق الأسواط	- مالم يعالج المريض مبكرا فإن المرض يستمر لعدة أسابيع ، وقد يموت المريض	

* للوقاية ، فإنه فى جميع الحالات ، تراعى الشروط الصحية فى تداول ، وإعداد ، وحفظ الغذاء ، ومراعاة عدم تلوث مياه الشرب بمياه المجارى .

تابع جدول ١٣-٢ :

٢- أمراض السالمونيلات Salmonellosis

المرض	المسبب	تولد المرض	الوقاية والعلاج
Salmonellosis أمراض السالمونيلات	*Salmonella* spp.	- تمتاز الحميات المعوية بإنتشار المسبب بكل أجزاء الجسم ، وترتبط العدوى بتوكسين داخلى بالبكتريا المسببة	الوقايـــة
- Gastroenteritis - الإلتهابات المعوية والتسممات الغذائية	*S. typhimurium, S. enteritidis*	- تظهر الأعراض بعد ٨–٤٠ ساعة من تناول الغذاء الملوث	- حماية الغذاء من التلوث من القوارض والحيوانات الأخرى - جودة الرقابة على اللحوم بالمجازر
	S. schottmuelleri	- تحدث عدوى معتدلة ، أى أقل حدة عن حالة عدوى حمى التيفود	- لايوجد لقاح مناسب حتى الأن
- Enteric fever - حميات معوية	*S. cholerae suis*	- تظهر حمى (٣٩°م) ، مع حدوث مغص وقيىء وإسهال	
- Salmonella septicemia - تلوث الدم بالسالمونيلا	- توجد أنواع السالمونيلا المذكورة أعلاه فى كثير من الدواجن ، والقطط ، والكلاب ، والقوارض ، وتعتبر هذه الحيوانات مصادر تلوث الأغذية - وتتشابه صفات هذه الأنواع من السالمونيلا ، مع صفات بكتريا *Salmonella typhi* ، ص ١٠٣٩	- يستمر المرض لعدة أيام (٢–٥ يوم) ، ثم يشفى المريض غالبا	العلاج. - تعالج الحميات المعوية بالمضادات

تابع جدول ١٣-٢ :

٣- الكوليرا – الهيضة Cholera

المسبب	تولد المرض	الوقاية والعلاج
Vibrio cholerae – واوى الشكل ، مفرد ، سالب لصبغة جرام – غير متجرثم – متحرك بأسواط طرفية – إختيارى للهواء – خليط التخمر للسكريات – يخمر ببطء سكر اللاكتوز – ينمو عند قد يد ٩,٠ – له عدة سلالات سيرولوجية	– مرض حاد ، ينتشر بالمناطق الريفية ومتوطن بالهند – يتكاثر الميكروب أساساً بالأمعاء الدقيقة – مدة الحضانة ١-٣ يوم – الأعراض : مغص ، قيىء ، إسهال (مثل ماء الأرز) – وفى الحالات الشديدة ، تحدث صدمة للمريض نتيجة فقد المياه والأملاح ، ويحدث هذا الفقد بسبب توكسين معوى خارجى ، يفرزه الميكروب ، يؤثر على الطبقة المخاطية المبطنة للأمعاء – مالم يعالج المريض سريعاً ، تحدث الوفاة	**الوقاية** راجع حمى التيفود ، ص ١٠٣٩ **العلاج** – تعويض فقد السوائل ، بإعطاء المحاليل الفسيولوجية – إستعمال التتراسيكلين

٤- عدوى غذائية بالفبريو *Vibrio parahaemolyticus* food infection

المسبب	تولد المرض	الوقاية
Vibrio parahaemolyticus – محب للملوحة ، محلل لكرات الدم الحمراء – يوجد بكثرة فى الأغذية البحرية – راجع باقى صفات البكتريا السابقة *Vibrio cholerae*	– تظهر الأعراض بعد ٢-٤٨ ساعة من تناول الغذاء الملوث – الأعراض : إضطرابات معوية ، مغص ، قيىء ، إسهال – يستمر المرض لعدة أيام (٢-٥ يوم) ، بعدها يشفى المريض	**الوقاية** – الإعداد الجيد للأغذية البحرية – حفظ الغذاء بالثلاجة

تابع جدول ١٣-٢ :

٥- الدوسنتاريا الباسيلية (الزحار الباسيلى) **Shigellosis, Bacillary dysentery**

المسبب	تولد المرض	الوقاية والعلاج
بكتريا *Shigella*• spp. *S. dysenteriae, S. bodyii, S. flexneri, S. sonnei* - عصوى قصير ، مفرد ، سالب لصبغة جرام - غير متجرثم ، غير متحرك - إختيارى للهواء - خليط التخمر للسكريات - يخمر سكر اللاكتوز مع إنتاج حامض بدون غاز	- مرض واسع الإنتشار ، خاصة بين الأطفال حتى عمر ٥ سنوات - مدة الحضانة من ١-٧ يوم - يسبب إلتهابا حادا بالقناة الهضمية - ويهاجم الخلايا المبطنة لأنسجة الأمعاء الغليظة - وتتكون قروحا فى نهاية الأمعاء الدقيقة وفى القولون - يسبب آلاما بالبطن ، مع إسهال شديد مخاطى مدمم وبه صديد	- لايوجد لقاح فعال حتى الآن - لاتستعمل المضادات إلا فى الحالات الشديدة

٦- الدوسنتاريا الأميبية (الزحار الأميبى) **Amebiasis, Amebic dysentery**

المسبب	تولد المرض	الوقاية والعلاج
أميبا *Entamoeba histolytica* - تتبع ذوات الأقدام الكاذبة Sarcodina - تتكاثر بالإنقسام الثنائى - كما أنها تكون حويصلات مقاومة للظروف السيئة ، تخرج مع البراز وتظل ساكنة ، حتى تعاود إصابة العائل - حاملى الميكروب ، هم المصدر الرئيسى للحويصلات	- تهاجم الأميبا الأنسجة المخاطية المبطنة للأمعاء وتحدث قروحا - تسبب إسهالاً قد يكون شديداً ، مما يسبب خطورة على المريض - قد يكون البراز مدمما - قد يسبب الميكروب خراريج بالكبد وأعضاء أخرى مثل الرئة	الوقاية : بالنظافة العلاج بالكيميائيات مثل Chloroquine

• ينسب اسم الجنس إلى إسم العالم اليابانى شيجا ، مكتشف المسبب المرضى للدوسنتاريا الباسيليه عام ١٨٩٨ باليابان

تابع جدول ١٣-٢ :

٧- مرض الجيارديات Giardiasis - اسهال بسبب بروتوزوا ذات أسواط

المسبب	تولد المرض	الوقاية والعلاج
Giardia intestinalis (G. lamblia) - تتبع البروتوزوا ذوات الأسواط Mastigophora (Flagellates) - طريقة الإنتقال مثل الأميبا حيث تكون حويصلات ، تخرج مع البراز ، فتلوث الغذاء والمياه ، وتنتقل للعائل	- تهاجم البروتوزوا الأنسجة المخاطية المبطنة للأمعاء وتسبب إسهالاً ، وآلاما بالبطن	**الوقاية** : بالنظافة **العلاج** : بالكيميائيات

٨ - الدوسنتاريا البالانتيدية (الزحار البالانتيدى) **Balantidial dysentery (Balantidiasis)**

المسبب	تولد المرض	الوقاية والعلاج
Balantidium coli - تتبع بروتوزوا الهدبيات Ciliata - تتحرك بواسطة الأهداب - طريقة الإنتقال مثل الأميبا	- تصيب البروتوزوا الأمعاء ، وتسبب أعراضا مشابهة للدوسنتاريا الأميبية	**الوقاية** : بالنظافة **العلاج** : بالكيميائيات

جدول ١٣-٣ : بعض الأمراض التى تصيب الإنسان ، وتنتقل عن طريق الغذاء ، وسببها سم ميكروبى (تسمم غذائى)

١- التسمم العنقودى Staphylococcal food poisoning

المسبب	تولد المرض	الوقاية والعلاج
توكسين معوى خارجى تفرزه بكتريا *Staphylococcus aureus* سلالة منتجة للسموم Toxinogenic strain والميكروب : - كروى فى تجمعات عنقودية، موجب لصبغة جرام - غير متجرثم ، غير متحرك - إختيارى للهواء - موجب لإختبار الكواجيوليز ، أى قادر على تخثير بلازما الدم Coagulaso - له خمسة سلالات سيرولوجية على الأقل - يتواجد الميكروب بشكل طبيعى على الجلد ، وبالأنف والزور ، ومن السهل أن يصل للغذاء ويلوثه	- تسمم غذائى شائع ، ويصيب عدداً كبيراً من الأفراد - السم الذى يفرزه الميكروب يتحمل الحرارة - تظهر أعراض التسمم بعد عدة ساعات (٢-٦ ساعة) من تناول الغذاء الملوث - الأعراض : إضطرابات معوية ، مغص ، قيىء ، إسهال - يستمر المرض لمدة ١-٢ يوم ، بعدها يشفى المريض	الوقاية - الطهو الجيد للغذاء - عدم ترك الغذاء فترة طويلة بالمطبخ ، بل يوضع فى الثلاجة - لايوجد لقاح أو مضاد فعال

٢ - التسمم البوتشولينى Botulism

المسبب	تولد المرض	الوقاية والعلاج
توكسين خارجى تفرزه بكتريا *Clostridium botulinum*• والميكروب : - عصوى طويل ، مفرد غالباً، موجب لصبغة جرام - متجرثم بجرثومة بيضاوية ، تحت طرفية ، والإسبورانجيا منتفخة - الجراثيم شديد المقاومة للحرارة - متحرك بأسواط محيطية - لاهوائى - له سبعة سلالات سيرولوجية - يتواجد الميكروب بكثرة فى التربة والأوساط البحرية	- السم يتأثر بالحرارة ، وهو من أقوى السموم المعروفة (٠.١ ملليجرام كافية لقتل انسان) . - تظهر أعراض التسمم بعد ١٢-٤٨ ساعة ، من تناول الغذاء الملوث - يؤثر السم على الجهاز العصبى Neurotoxin ويسبب صعوبة فى الكلام والبلع ، والتنفس وازدواج فى الرؤية - يسبب السم شللاً لعضلات التنفس والعضلات الإرادية - إحتمالات الموت عالية فى هذا التسمم	الوقاية - المعاملة الحرارية الكافية للأغذية المعلبة منزلياً - غلى الغذاء قبل الأكل (١٠٠°م/١٠ق) - الوقاية بالتوكسويد Toxoid العلاج - معادلة السم بالمصاب ، قبل ظهور أعراض التسمم ، بواسطة مضادات التوكسين Antitoxin

• أول من أكتشف البكتريا المسببة للتسمم ، ، هو العالم الألمانى Van Ermengem ، عام ١٨٩٦ ، فى السجق (Sausage, Latin Botulus) .

تابع جدول ١٣-٣ :

٣- التسمم البرفنجى Perfringal food poisoning

المسبب	تولد المرض	الوقاية والعلاج
توكسين معوى خارجى تفرزه بكتريا *Clostridium perfringens* والميكروب : - عصوى طويل ، مفرد ، موجب لصبغة جرام - متجرثم بجرثومة بيضاوية ، وسطية غير منتفخة - غير متحرك - لاهوائــــى - له ستة سلالات سيرولوجية - بعض أفراده يسبب الغرغرينا الغازية* - الميكروب منتشـــر بالطبيعـة وفــى التربــة ، والمخلفات البرازية	- يتكون التوكسين بالغذاء ، إذا ترك الغذاء بعـــد إعداده لفترة طويلة ، تحت ظروف لاهوائية - تظهر أعراض التسمم بعد ٨-٢٤ ساعة من تناول الغذاء الملوث ١ - الأعراض : - إضطرابات معوية ، مغص ، قــىء ، إسهال - يستمر المرض لأقل من يوم ، بعدهـا يشفــى المريض	الوقايـــة - تجنب ترك الغذاء بالمطبخ لفترة طويلة، بل يحفظ فى الثلاجة - لايوجد لقاح أو مضاد فعال

٤- تسممات أخرى

من الأنواع البكتيرية الأخرى ، التى قد تسبب تسمما غذائيا ، سلالات خاصة من *B. cereus, E. coli* & *Proteus* spp.

* أنظر الغرغرينا الغازية بجدول ١٣-٦ ، ص ١٠٥٥

تابع جدول ١٢-٣ :

٥- التسمم بالأفلاتوكسين Aflatoxin food poisoning

المسبب	تولد المرض	الوقاية والعلاج
توكسين خارجي يفرزه فطر *Aspergillus flavus* - الهيفات مقسمة ، الميسيليوم متفرع - تُحمل الجراثيم الكونيدية على حوامل كونيدية - الفطر واسع الإنتشار فى الطبيعة	- يتكون السم بالحبوب والدرنات والأغذية، مثل الفول السودانى والحبوب المخزنة فى جو رطب ، تحت ظروف سيئة لفترات طويلة - يتأثر بالسم كل من الإنسان ، والحيوان عند تناول أغذية ملوثة - يسبب التسمم تلف أنسجة الكبد ، وتكون أورام ، وتثبيط المناعة الخلوية	الوقايـــــة العناية بتخزين الأغذية تحت ظروف مناسبة وفى جو جاف لمنع نمو الفطر

٦- تسممات غذائية فيروسية Viral food poisoning

من الفيروسات المسببة Adinovirus, Echovirus, Retrovirus … etc.	هذه الفيروسات الملوثة للمواد الغذائية ، تسبب تسمماتاً غذائية للإنسان ، تظهر فى صورة إضطرابات معوية ، ومغص ، وقيىء ، وإسهال	

ثالثا : أمراض تنتقل عن طريق التلامس المباشر:

Diseases transmitted by direct contact

توجد مجموعة قليلة من البكتريا المرضية ، التي لها القدرة على دخول الجسم من الجلد والأغشية المخاطية ، وتعتمد هذه البكتريا في إنتشارها بين الأفراد ، على التلامس المباشر والمخالطة ، وتتضمن هذه المجموعة من البكتريا المرضية قسمين ، هما

أ - مسببات الأمراض الجنسية : *Venereal diseases

تنتقل هذه الأمراض بواسطة الجنس ، ومثلها السيلان والزهري .

وهذه الأمراض واسعة الانتشار ، ولايستطيع المسبب المرضي لهذه الأمراض ، أن يبقى حيا خارج جسم العائل لفترة طويلة ، ويحتاج في إنتقاله من شخص مصاب لآخر سليم ، إلى حدوث تلامس مباشر بين الأنسجة المخاطية لكلا الشخصين ، ولذلك فإن الاتصال الجنسي هو السبب الرئيسي لانتشار هذه الأمراض ، وإن كان الزهري ينتقل من الأم المريضة إلى الجنين عن طريق المشيمة ، كما ينتقل السيلان إلى أعين الأطفال حديثي الولادة Neonatorum أثناء مرور الوليد خلال قناة الولادة Birth canal للأم المصابة ، مما يسبب مرض العمى السيلاني لحديثي الولادة Neonatorum opthalamia .

ولايوجد لقاح واقي ، حتى الآن ، من هذه الأمراض المنقولة بالمخالطة ، ولكن تأتي الوقاية بالإبتعاد عن الاتصالات الجنسية غير المشروعة ، غير السوية ، ويتم العلاج بالمضادات الحيوية كالبنسلين ، مع الأخذ في الاعتبار بأن العلاج المبكر من هذه الأمراض يجنب المصاب عواقب وخيمة .

وجدول [١٣-٤] ، يبين بعض الأمراض التي تصيب الانسان ، وتنتقل بالاتصال الجنسي .

* نسبة الى فينوس Venus الهة الحب والجمال عند الرومان

جدول ١٣-٤ : بعض الأمراض التى تصيب الإنسان ، وتنتقل بالإتصال الجنسى

١- السيلان Gonorrhea

المسبب	تولد المرض
Neisseria gonorrhoeae Commonly called, Gonococcus - كروى صغير ، فى أزواج ، سالب لصبغة جرام - غير متجرثم ، غير متحرك - الأنواع الممرضة لها شعيرات (Pili) - إختيارى للهواء - وحساس جداً للجفاف - موجب لإختبار الأكسيديز - ينتقل بالإتصال الجنسى - وينتقل للأطفال أثناء الولادة ، بالتلوث من أم مصابة	- مرض سريع الإنتشار - بعد الاتصال الجنسى ، يخترق الميكروب الأغشية المخاطية للمجرى التناسلى ، ويستقر بالأعضاء التناسلية - يظهر المرض ، بعد فترة حضانة من ٢-٨ يوم من العدوى - يسبب فى الرجال ، التهاب الإحليل (مجرى البول) ، ونزول صديد مع البول ، وإذا أهمل العلاج ، يصيب الميكروب الخصية والبروستاتة ، ويسبب عقم الرجال - يسبب فى المرأة إلتهاب المهبل ، وآلاماً عند التبول وإذا أهمل العلاج ، يصيب قناة فالوب وقد تنسد ويحدث العقم - يسبب للأطفال حديثى الولادة التهابات بملتحمة العين ، وقد يسبب العمى - لوقاية الأطفال فانه عقب الولادة ، يقطر بعين الطفل بنترات فضة ١%

تابع جدول ١٣-٤ :

٢- الزهرى - السفلس Syphilis

المسبب	تولد المرض
Treponema pallidum - سبيروكيتا - حلزونى الشكل ، قطره ٠,٣ µm وطوله من ٥-١٥ µm ، وعدد لفاته من ٦-١٤ لفه - رهيف ، ذو جدار مرن ، وذو أطراف مدببة - مفرد ، سالب لصبغة جرام - غير متجرثم ، متحرك حركة لولبية ، سابحة فى السوائل بدون أسواط - لاهوائــى	- أقل إنتشاراً من السيلان ، ولكنه أشد خطورة - بعد الإتصال الجنسى ، يخترق الميكروب الأنسجة المخاطية للجهاز التناسلى - بعد فترة حضانة حوالى شهراً (من ١٠-٩٠ يوماً) ، تتكون قروحاً Chancre إبتدائية موضعية مكان الإصابة ، ويعرف ذلك بالزهرى الإبتدائى Primary syphilis ، (القرح أماكن مملوءة بالميكروب) - بعد عدة أسابيع من إختفاء قرح الزهرى الابتدائى ، يكون الميكروب قد إنتشر بالجسم ، وتحدث عدوى عامة ، وتظهر قـرح الزهـرى الثانوى Secondary syphilis بالأعين ، والعظام والجهاز العصبى المركزى - تختفى قرح الزهرى الثانوى بعد عدة أسابيع ، فإذا لم يعالج المريض ، يكمن الميكروب بالجسم لفترة قد تصل لعدة سنوات ، بعدها تظهر قرح المرحلة الثالثة Tertiary syphilis بالعين والجلد ، وصمامات القلـب والجهاز العصبى المركزى ، والعظم ، وقد يصاب المريض بالعمى ، وإضطرابات بالقلب ، وإختلال بالقوى العقلية ، وينتهـى المـرض بالموت - يسبب الميكروب بالأم الحامل المصابة ، تشوه الجنين أو موته

٣- عدوى بالمهبل والإحليل Trichomoniasis

المسبب	تولد المرض
Trichomonas vaginalis - بروتوزوا تتبع ذوات الأسواط Mastigophora (Flagellates) - الميكروب مثل ميكروب السيلان والزهرى ، لايستطيع أن يعيـش طويلاً خارج جسم العائل - يتحرك بالأسوط ، لايكون حويصلات - يتكاثر بالإنقسام الثنائى - ينتقل بالإتصال الجنسى	- تظهر الأعراض بعد ٤-٢٠ يوماً من العدوى - يسبب إلتهاب الإحليل ، والبروستاته بالرجل - ويسبب إلتهاب المهبل بالمرأة - تتكون إفرازات كريهة الرائحة العـلاج : بالكيميائيات المضادة مثل Metronidazole

ب -مسببات الأمراض التى تنتقل بالتلامس المباشر عن غير طريق الجنس :

Non-venereal diseases

من هذه الأمراض الجمرة الخبيثة ، وأمـــراض البروســـيلا ، والتولاريميـــا ، وهـــذه الأمراض هى أصلاً أمراض حيوانية ، وتنتقل من الحيوان المصاب إلــــى الإنســـان بـــالتلامس المباشر ، أو بتناول لحوم وألبان ملوثة .

وجدول [١٣-٥] يبين بعض الأمراض التى تصيب الانسان ، وتنتقل بالتلامس المباشر عن غـير طريق الجنس .

جدول ١٣-٥ : بعض الأمراض التى تصيب الإنسان ، وتنتقل بالتلامس المباشر (عن غير طريق الجنس)

المرض	المسبب	تولد المرض
١- الجمرة - الحمى التفحمية Anthrax	*Bacillus anthracis* - عصوى طويل ، فى سلاسل ، موجب لصبغة جرام - متجرثم بجرثومة وسطية غير منتفخة - غير متحرك - له كابسول من حامض الجلوتاميك - هوائى حتمى - ينتقل للإنسان من مخالطة حيوانات مريضة ، ويدخل الجسم من منافذ متعددة•	- يصيب الحيوانات المستأنسة والبرية - ويصيب الإنسان ، حيث يسبب ظهور بثرات خبيثة Malignant pustules مكان العدوى بالجلد ، ذات مركز أسود ، مع حدوث تلوث الدم بالبكتريا Septicemia . وقد يصيب أجهزة داخلية بالجسم كالرئتين - ينتهى المرض بالموت غالباً إذا مالم يعالج - الوقاية : بحقن المخالطين باللقاح - العلاج : بالمضادات الحيوية كالبنسلين
٢- أمراض البروسيلات Brucellosis - الإجهاض المعدى - Abortion - حمى مالطة - Malta fever - حمى البحر الأبيض - Mediterranean fever - الحمى المتقطعة - Undulant fever	*Brucella abortus, B. melitensis, B. suis* - عصوى قصير ، مفرد ، سالب لصبغة جرام - غير متجرثم ، غير متحرك - هوائـــــــى - ينتقل للإنسان من مخالطة حيوانات مصابة ، ومن اللحوم المصابة ، والألبان الملوثة	- يصيب عدداً كبيراً من الحيوانات ، ولكل ميكروب العائل الذى يفضله ، مثلاً فى الأبقار *B. abortus*, for cattle فى الماعز *B. melitensis*, for goat فى الخنازير *B. suis*, for swine - فى الحيوان ، يستقر الميكروب بالرحم ، ويسبب مرض الإجهاض المعدى - فى الإنسان ، ينتشر الميكروب بالجسم ، ويتكاثر فى الخلايا الملتقمة ، ويسبب مرض الحمى المتقطعة - العلاج : بالمضادات مثل التتراسيكلين

• منافذ دخول بكتريا الجمرة الى الجسم : تدخل البكتريا المسببة ، الجسم من منافذ متعددة
- عن طريق خدش أو جرح بالجلد
- أو عن طريق الجهاز التنفسى بالاستنشاق ويسمى المرض جمرة رئوية Pneumonic anthrax
- أو من استنشاق الجراثيم العالقة بصوف الحيوان ، ويسمى بمرض فرازى الصوف Wool sorter's disease
- أو من طعام ملوث يمر بالجهاز الهضمى ويسمى المرض جمرة معوية Intestinal anthrax .

تابع جدول ١٣-٥ :

المرض	المسبب	تولد المرض
٣- التولاريميا ، حمى الأرانب Tularemia [1]	*Francisella tularensis* [2] (Formerly, *Pasteurella tularensis*) - عصوى قصير جداً ، مفرد ، سالب لصبغة جرام - غير متجرثم ، غير متحرك ، يمر من المرشحات البكتيرية - هوائى - ينمو غالباً بداخل خلايا العائل - ينتقل للإنسان من ملامسة جلد أو لحوم حيوانات مصابـة ، ويدخل عن طريق خدش ، أو جرح بالجلد - وينتقل أيضا بواسطة مفصليات الأرجل ، من لدغ القراد ، والبعوض ، وأنظر ص ١٠٥٩	- يصيب عدداً كبيراً من القوارض - بعد إصابة الإنسان ، ينتشر الميكروب من خلال الدم ، بكل الجسم - تظهر الأعراض بعد عدة أيـام (١-١٠ يوم) في شكل حمى تستمر عدة أسابيع - قد يسبب قروحا بالرئتيـن ، والكبد ، والطحال ، والمخ - العلاج : بالمضادات كالتتراسيكلين

(١) نسبة إلى مقاطعة Tulare بكاليفورنيا ، التي اكتشف بها المرض لأول مره

(٢) ينسب اسم الجنس إلى اسم العالم Francis ، مكتشف المسبب المرضى ، ومفصليات الأرجل الناقلة للمسبب من الأرانب الى الإنسان ، عام ١٩١٩

حـ بعض الأمراض الأخرى الهامة المنقولة : Other transmissible diseases

قد تنتقل بعض المسببات المرضية ، بأكثر من طريقة ، أو بطرق أخرى غير طريق التلامس المباشر التى سبق ذكرها ، وتسبب هذه المسببات ، بعض الأمراض الهامة للإنسان ، والتى منها الالتهابات المعوية التى تسببها الإشريشيا ، ومرض الجذام .

١ - الإلتهابات المعوية الناتجة عن بكتريا الإشريشيا :

Gastroenteritis caused by *Escherichia coli*

E. coli ميكروب عصوى قصير ، مفرد ، سالب لصبغة جرام ، غير متجرثم ، متحرك بأسواط محيطية ، إختيارى للهواء ، خليط التخمر ، ويخمر سكر اللاكتوز مع إنتاج حلمض وغاز .

وتوجد هذه البكتريا ، بشكل طبيعى فى القناة الهضمية ، حيث تشكل جزءا هاما من الميكروبات الموجودة بها ، ورغم ذلك ، فقد لوحظ أن بعض سلالات من *E. coli* ، تسبب إلتهاباتاً معوية للإنسان والحيوان ، وتنتقل من اليد إلى الفم ، دون حاجة إلى النمو أو التكاثر فى الغذاء .

يوجد من *E. coli* مئات السلالات ، التى تختلف عن بعضها فى خواصها الأنتجينية ، حيث تميز هذه السلالات سيرولوجياً بالإنتجينات الجسدية O, Somatic antigens ، وهى أنتجينات من نوع الليبو عديد السكريات Lipopolysaccharides ، وتوجد بجدار الخلية .

كما تميز هذه السلالات بأنتجينات الكابسول K, Capsular antigens وهى من عديدات التسكر ، وتوجد بكابسول البكتريا .

وتميز تلك السلالات أيضا بأنتجينات الأسواط H, Flagellar antigens ، وهى من البروتين ، وتوجد بالأسواط .

تسبب السلالات المرضية من *E. coli* ، مثل السلالة 055 ، والسلالة 0124 ، الإسهال والإلتهابات المعوية ، بالأطفال والبالغين ، فهذه السلالات البكتيرية ، تسكن الأمعاء ، وتهاجم الأغشية المبطنة ، وتسبب أعراضا مشابهة لأعراض الدوسنتاريا الباسيلية (الناتجة عن بكتريا الشيجلا) ، كما أن من *E. coli* ، سلالات مثل السلالة 025 ، التى تنتج توكسين معوى خارجى ، يسبب الإسهال ، وأعراضا مماثلة لما تسببه بكتريا الكوليرا .

وتعالج الإلتهابات المعوية الناتجة عن *E. coli* ، بواسطة المضادات الحيوية .

٢ - الجذام : Leprosy

الجذام مرض مزمن ، يكثر فى المناطق المدارية الحارة ، كوسط أفريقيا والهند والصين والبرازيل ، وهو يصيب الوجه والجلد والأعصاب الطرفية ، فيسبب بها تشوهاتاً وتقرحاتاً وتآكلاً ، وفقداناً لحساسية الجلد ، وتقرحاتاً بالعين ، وقد يصيب الخصيتين ويسبب العقم .

يسبب المرض بكتريا *Mycobacterium leprae* ، وهو يشبه بكتريا السل ، فهو عصوى منحنى ، مفرد أو فى تجمعات ، موجب لصبغة جرام ، صامد للأحماض ، غير متجرثم غير متحرك ، هوائى ، ويكثر وجوده فى الدرنات التى يكونها بأماكن الاصابة .

ومدة حضانة بكتريا الجذام غير محددة حتى الأن ، فقد تتراوح من عدة شهور الى عدة سنوات ، والسلالات الشديدة الأمراض Virulent strains من بكتريا الجذام متطفلة إجباراً حيث لم يمكن تنميتها على بيئات صناعية ، أما السلالات غير شديدة الأمراض Avirulent strains ، فقد أمكن تنميتها على بيئات صناعية .

تنتقل بكتريا الجذام بالاحتكاك بجلد الشخص المصاب ، أو مع إفرازات الأنف ، وتلعب الظروف المعيشية القاسية ، وسوء التغذية وضعف الجهاز المناعى ، دوراً كبيراً فى زيادة نسبة الإصابة بالمرض .

ليس هناك لقاح واقى من المرض حتى الأن ، ولكن يمكن تجنب المرض بالإهتمام بتحسين الظروف الصحية ، والتغذية الجيدة ، وعزل المرضى فى مصحات المجذومين Leprosaria .

ويتم علاج المرض بالحقن بعقاقير السلفونات ، والمضادات الحيوية كالأستربتومايسين .

رابعا : عدوى الجروح : Wound infections

عندما يدخل بالجرح ، مادة غريبة غير معقمة ، يدخل مع هذه المادة ، الميكروبات الملوثة ، فإذا كانت ظروف الجرح مناسبة لها ، فإن نوعاً أو أكثر من الميكروبات ينمو ويتكاثر ، ويسبب العدوى ، التى قد تنتشر بكل الجسم من خلال الدم أو الأنسجة .

وتحت الظروف العادية ، لايعتبر دخول الميكروب من الجرح ، طريقاً طبيعياً لإنتقال الميكروبات ، مثالاً على ذلك ، فإنه غالباً مايوجد بالجروح الملوثة ، البكتريا القاطنة بالتربة ، مثل الكلوستريديا ، وهى لاهوائية حتماً ولاتنمو فى الأنسجة السطحية السليمة ، ولكن تعتبر الجروح العميقة وسطاً مناسباً لها ، حيث تتوفر الأنسجة الميتة ، وتقل نسبة الأكسجين .

وتفرز أنواعاً كثيرة من بكتريا الكلوستريديا ، سموما خارجية شديدة التأثير ، تتلف موضعياً الأنسجة المصابة ، مثل *Clostridium perfringens* ، التى تشارك فى حدوث الغرغريبا الغازية ، أو ينتشر التوكسين بالدم ، ويؤثر على الجهاز العصبى مثل توكسين بكتريا *Cl. tetani* ، المسبب لمرض التتانوس (الكُزاز) .

وبالإضافة إلى الكلوستريديا ، التى تعتبر أخطر ملوثات الجروح ، يوجد بكتريا أخرى تدخل من الجروح وتلوثها ، مثل

Staphylococci, Streptococci, Pseudomonads and Enterobacter

ويوضح جدول [١٣-٦] بعض الأمراض الهامة ، التى تنشأ عن طريق الجروح .

جدول ١٣-٦ : بعض أمراض عدوى الجروح الشائعة

١- التتانوس – الكزاز – مرض الفك المقفول Tetanus - Lockjaw

المسبب	تولد المرض
توكسين خارجى ، عصبى ، تفرزه بكتريا *Clostridium tetani* والميكروب : - عصوى طويل ، مفرد ، موجب لصبغة جرام - متجرثم بجرثومة طرفية منتفخة - متحرك بأسواط محيطية - لاهوائـى حتمـى - لايخمـر الكربوهيدرات - الميكروب موطنه التربة ، وقد يوجد فى براز الحيوانات - يدخل الجسم عن طريق الجروح - وقد يصيب الأطفال حديثى الولادة عند تلوث جـرح السـرة ، مـن ضمادات ملوثة ، مسببا التيتانوس الوليدى Neonatorum tetany	- يحدث المرض ، عند توفر الظروف ، اللاهوائية المناسبة لنمو الميكروب ولتكون التوكسين - بعد فترة حضانة من ١-٣ أسبوع ، ينتشر التوكسين بالدم ، ويصيب الجهاز العصبى فيحدث تقلص ، وشلل بالعضلات ، خاصة فى الرقبة والفك - يموت المريض إذا لم يعالج - الوقاية : بالتوكسويد Toxoid ، وبتحصين الأطفال باللقاح الثلاثى (أنظر الوقاية من الدفتريا ، جدول ١٣-١ ، ص ١٠٣٣) . - تطعيم الحوامل بجرعتين من توكسويد التتانوس - تطهير الجرح عند حدوثه ، بالماء والصابون والمطهرات ، مع إعطاء المصاب لقاح توكسويد التتانوس - التعقيم الكافى لأدوات الجراحة والولادة العـلاج : بمضادات التوكسين Antitoxin ، وذلك قبل ظهور الأعراض على الجهاز العصبى

٢- الغرغرينا الغازية Gas gangarene

المسبب	تولد المرض
Clostridium perfringens (*welchii*), - عصوى طويل ، مفرد ، موجب لصبغة جرام - متجرثم بجرثومة وسطية غير منتفخة - غير متحـــرك - لاهوائـى حتمـى - مخمر للسكريـات - الميكروب موطنه التربة ، ويوجد بالبراز ، ويدخل الجسم عن طريـق الجروح	- تحت الظروف اللاهوائية ، ينتج الميكروب مجموعة من التوكسينات - يسبب تلف وموت الأنسجة ، مع تجمع غاز الإيدروجين الناتج من تخمير الميكروب للسكريات - قد يسبب تسممات غذائية العلاج : بمضادات التوكسين ، والتدخل الجراحـى إن لزم الأمـر لإزالة الأنسجة التالفة

تابع جدول ١٣-٦ :

٣- مرض اللولبيات الرقيقة - مرض فايل **Leptospirosis , Weil's disease**

المسبب	تولد المرض
Leptospira icterohaemorrhagiae (*L. interrogans, Spirochaeta icterogenes*) سبيروكيتا - حلزونى الشكل ، ذو أطراف ملتوية خطافية ، رهيف ، ذو جدار مرن ، يمر من مرشح بركفلد - مفرد ، سالب لصبغة جرام - غير متجرثـم - متحرك حركة لولبية سابحة فى السوائل بدون أسواط - هوائـــى - يوجد الميكروب فى دم وفى بول الحيوانات المريضة ، ويلوث التربة ومياه الشرب - يدخل الجسم عن طريق جرح بالجلد ، من ملامسة تربة أو مياه ملوثة ، وينتشر مع الدم	- يسبب عدوى مزمنة ، معتدلة الحدة ، بالقوارض ، وبالحيوانات المنزلية - بعد فترة حضانة حوالى ١٠ أيام ، يسبب بالإنسان حمى ، قد يعقبها مايشبه اليرقان (إصفرار لون الجلد) **الوقايـــة** النظافـــــة تجنب تلوث المياه مقاومة القـــوارض **العـــلاج :** المضادات

خامسا : الأمراض التى تنتقل عن طريق مفصليات الأرجل : Arthropod-borne infections

تنتمى مفصليات الأرجل ، لشعبة المفصليات Phylum Arthropoda ، التى تجمع أكبر تجمع للأنواع بالمملكة الحيوانية . وبعض مفصليات الأرجل ، هام من الناحية الطبيـة ، لأنـها تمثل أهم المصادر الناقلة لمسببات أمراض الانسان ، فمنها مايسبب موتا موضعيا لأنسجة الجسم (النكرزه Necrosis) ، أو جروحا ورضوضا (Trauma, *pl.* Traumata) ، أو حالات حساسـية .

ومن المفصليات مايقوم بنقل المسببات المرضية للإنسان ، حيث تعمل كناقل ميكـانيكى Mechanical vector ، أو كناقل بيولوجى Biological vector .

فتعمل المفصليات كناقل ميكانيكى للمسبب المرضى ، كما فى حالة نقل الذباب المـنزلى *Musca domestica* لبكتريا التيفود ، والحميات المعوية ، وفيروسات شلل الأطفال ، والإلتهاب الكبدى .

أو تعمل المفصليات كناقل حيوى ، أى تقوم بدور العـائل الوسـطى بيـن المسـببات المرضية وبين الإنسان ، فتصل الميكروبات المرضية إلى المفصليات ، بالبلع عادة ، وتمضـى بها فترة حضانة ، أو تستكمل بها دورة حياتها ، وبعد أن يتم ذلك ، ينتقل الميكروب الممـرض الى الإنسان ، عند لدغ المفصليات للجلد ، مع قيىء البراغيث كما فى الطاعون ، أو مع بـراز القمل كما فى التيفوس ، أو مع لعاب البعوض كما فى الملاريا .

ويلاحظ أن المسببات المرضية التى تنتقل عن طريق المفصليـات ، إكتسـبت أثنـاء تطورها ، القدرة على أن تحيا فى أكثر من عائل ، على سبيل المثال ، فإن بكتريا الطـاعون ، تستطيع أن تنمو وتتكاثر فى الفيران ، والبراغيث ، والانسان ، وتحملها البراغيث من فار إلـى آخر ، أو من الفأر إلى الإنسان .

ومن هذه المسببات المرضيـة ، مـايتبع البكتريـا الحقيقيـة (كبكتريـا الطـاعون ، والتولاريميا) ، أو يتبع الريكتسيا (المسببة للتيفوس) ، أو السبيروكيتا (المسببة للحمى الراجعة) ، أو البروتوزوا (المسببة للملاريا ، ومرض النوم ، والليشـمانيا) ، أو الفيروسـات ، كفـيروس الحمى الصفراء .

والأمراض المنقولة بواسطة المفصليات ، واسعة الانتشار فى العالم ، وقد تصل فـى بعض الحالات ، لدرجة الوباء العام Pandemic ، وتسبب هـذه الأمـراض المعانـاة الشـديدة للمرضى ، مع خسائر كبيرة لاقتصاديات الدولة ، ويمكن السيطرة علـى الأمـراض المنقولـة بالحشرات ، برفع المستوى الصحى للأفراد ، وبالجهود الجماعية لخلق ظروف غـير مناسـبة لتكاثر تلك الحشرات .

ومن المسببات المرضية الخطيرة التى تنتقل عن طريق الفقاريات ، فيروس السُّـعار . وهذا الفيروس منتشر ، ويصيب عددا كبيرا من الطيور والحيوانات ، وينتقل فيروس السُّعار إلى الانسان ، عند العض ، من لعاب الحيوان المصاب .

ويوضح الجدول [١٣-٧] ، بعض الأمراض التى تصيب الانسان ، من بكتريا منقولة بواسـطة مفصليات الأرجل كناقل حيوى .

جدول ١٣-٧ : بعض الأمراض الهامة للإنسان ، الناتجة عن بكتريا ، منقولة بواسطة مفصليات الأرجل ، كناقل حيوى

المرض	المسبب	الناقل الحيوى	علاقة مفصليات الأرجل بالمسبب المرضى
١- الطاعون Plague The black death - منتشر فى أماكن متعددة بالعالم - مرض شديد الخطورة ، شديد العدوى - نسبة الوفاة به عالية إذا لم يعالج - يسمى بالموت الأسود ، لأنه يسبب زرقة بجلد المصاب	*Yersinia** *pestis* Formerly, Pasteurella pestis - عصوى قصير ، مفرد ، سالب لصبغة جرام ، ذو قطبين عميقى الصبغ Bipolar staining - غير متجرثم - غير متحرك - لايكون كابسول - إختيارى للهواء - خليط التخمر	براغيث الفيران *Xenopsylla cheopis* براغيث الإنسان *Pulex irritans*	- يتكاثر الميكروب فى أمعاء البرغوث **الوقاية** - الوعى الصحى ، مقاومة البراغيث - التحصين باللقاح الواقى للأشخاص المعرضين **العلاج** المضادات مثل الإستربتومايسين

* نسبة إلى Yersin مكتشف المسبب عام ١٨٩٤ فى هونج كونج

مدة حضانة الميكروب بالإنسان من ٢-٦ يوم عقب الإصابة .

وللطاعون نوعان رئيسيان

- **الطاعون العقدى ، الدملى Bubonic plague**

ينتقل الميكروب بلدغ البراغيث ، ويسبب حمى وضعف عام ، مع تضخم العقد الليمفاوية **Buboes of lymph nodes** ، ومن هنا جاءت تسمية المرض ، ويغزو الميكروب الجسم ، ويسبب حالة تسمم بكتيرى بالدم

- **الطاعون الرئوى Pneumonic plague**

ينتقل الميكروب مع رذاذ الأنف والفم ، ويصيب الرئة ، وهذا النوع شديد العدوى

تابع جدول ١٣-٧ :

٢- التولاريميا - حمى الأرانب Tularemia

المسبب	الناقل الحيوى	علاقة مفصليات الأرجل بالمسبب المرضى
Francicella tularensis وأنظر مسبب التولاريميا (جدول ١٣-٥ ص ١٠٥٢)	القراد *Dermacentor* spp.	- يتكاثر الميكروب فى جدار الأمعاء الوسطى للقراد - ينتقل للإنسان باللدغ

٣- الحمى الراجعة (الناكسة) Relapsing (Recurrent fever)
منتشرة فى آسيا ، وأفريقيا، وأمريكا اللاتينية

المسبب	الناقل الحيوى	علاقة مفصليات الأرجل بالمسبب المرضى
سبيروكيتا *Borrelia recurrentis* - حلزونى الشكل - جدار مرن - مفرد ، سالب لصبغة جرام - غير متجرثم - متحرك حركة لولبية سابحة فى السوائل بدون أسواط - لاهوائى	قمل الجسم *Pediculus humanus*	- يتكاثر الميكروب بأنسجة القمل خارج الأمعاء - ينتقل الى الإنسان عند سحق القمل على الجلد

سادساً : الأمراض التى تسببها الريكتسيا : Rickettsial diseases

يوضح جدول [١٣-٨] ، بعض الأمراض الناتجة عن الريكتسيا .

والريكتسيا ، مجموعة من البكتريا ، عصوية ، صغيرة الحجم ، ٠,٣ × ١ µm ، سالبة لصبغة جرام ، لها جدار به ميورين ، متطفلة إجباراً داخل خلايا العائل ، وهى تفضل التكاثر بالخلايا المبطنة للأوعية الدموية ، وفى البلعميات الكبيرة (الملتقمات) ، وتُنمَّى داخل جنين الكتكوت ، وتتكاثر بالإنقسام الثنائى ، (أنظر تصنيف المجاميع البكتيرية ، الريكتسيات والكلاميديات ، بالباب السابع ، الفصل الثانى) .

وللريكتسيا علاقات تطفل مع المفصليات ، مثل القمل ، والبق ، والبراغيث ، والقراد ، والحَلَم ، وتعتبر هذه المفصليات ، العوائل الطبيعية للريكتسيا ، حيث تعيش بها دون أن تمرضها وتنتقل باللدغ إلى الإنسان ، وتسبب له بعض الأمراض .

جدول ١٣-٨ : بعض الأمراض الهامة للإنسان ، الناتجة عن ريكتسيا ، منقولة بواسطة مفصليات الأرجل ، كناقل حيوى

١-حمى التيفوس Typhus fever ، منتشرة فى مناطق متعددة

المسبب *Rickettsia prowazekii*

الناقل الحيوى	علاقة مفصليات الأرجل بالمسبب المرضى
قمل الجسم Body louse *Pediculus humanus*	- يتكاثر الميكروب بالأمعاء الوسطى للقمل - ينتقل الميكروب للإنسان باللدغ ، ومن براز القمل ، أو عند سحق القمل على الجلد

٢- حمى الخنادق Trench fever ، منتشرة فى أماكن متعددة ، وبين الجنود فى الخنادق

المسبب : *R. quintana*

قمل الجسم *Pediculus humanus*	مثل حمى التيفوس

٣- - حمى جبال روكى المبقعة Rocky mountain spotted fever

المسبب : *R. rickettsii*

القراد Ticks *Dermacentor* spp.	- يتكاثر الميكروب فى جدار الأمعاء الوسطى للقراد - ينتقل للإنسان بالدغ

سابعاً : الأمراض التى تسببها الكلاميديا : Chlamydial diseases

الكلاميديا ، خلايا كروية ، صغيرة الحجم ، قطرها ٠,٢ الى ٠,٧ µm ، تحصل على الطاقة من العائل . والكلاميديا ، مثل الريكتسيا ، متطفلة إجباراً ، تعيش داخل خلية العائل ، وتوجد فى الطيور والثدييات ، وتسبب لعوائلها الطبيعية ، أمراضا كامنة ، مزمنة (أنظر تصنيف المجاميع البكتيرية ، الريكتسيات والكلاميديات ، بالباب السابع ، الفصل الثانى) .

والكلاميديا ، بعكس الريكتسيا ، لاتنتقل للإنسان من خلال عوائل وسطية ، ولكنها تنتقل مباشرة من مصاب لآخر .

وجدول [١٣-٩] ، يوضح بعض الأمراض الهامة ، التى تسببها الكلاميديا .

جدول ١٣-٩ : بعض الأمراض الهامة بالإنسان ، التى تسببها الكلاميديا

١- حمى الببغاء Psittacosis

المسبب : *Chlamydia psittaci*

طريقة الإنتقال الرئيسية للميكروب	مظاهر المرض
ينتقل ببلع مواد ملوثة بفضلات برازية، من طيور مصابة	– التهاب الرئتين – حمى وضعف عام – وعدم العلاج قد يؤدى إلى الموت

٢- التراكوما – الرمد الحبيبى بالعين Trachoma

المسبب : *C. trachomatis*

طريقة الإنتقال الرئيسية للميكروب	مظاهر المرض
– ينتقل ميكانيكياً من أيدى ، أو أدوات ، ملوثة بالميكروب – ويلعب الذباب دوراً هاماً فى نقل الميكروب	– يسبب قروحاً بالعين – إهمال العلاج قد يؤدى إلى العمى

٣- إلتهاب ملتحمة العين Inclusion conjunctivitis

المسبب : *C. trachomatis*

طريقة الإنتقال الرئيسية للميكروب	مظاهر المرض
يوجد الميكروب طبيعياً بالجهاز التناسلى وينتقل الميكروب : – إلى الجنين عند الولادة – للبالغين بالإتصال الجنسى ، ومن الأصابع الملوثة	– إلتهاب ملتحمة العين Conjunctiva

References

مراجع الباب الثالث عشر

Alcamo I.E. (2001). Fundamentals of Microbiology. Jones and Bartlett, London.

Baron, S. (ed.) (1982). Medical Microbiology. Addison-Wesley, Menlo Park, Calif., USA.

Freeman Bob A. (1979). Burrows Textbook of Microbiology, 21st Ed. Saunders, Philadelphia, USA.

Greenwood D. (1993). Medical Microbiology, 14th Ed., Churchill, London.

Hoeprich P.D. (1977). Infectious Diseases. 2nd Ed. Harper & Row, New York.

Joklik, W.K.; H.P. Willett; D.A, Amos and C.M. Wilfert (1992). Zinsser Microbiology, 19th Ed. Appleton-Century- Crofts, New York.

Lederberg J. (ed.) (1992). Encyclopedia of Microbiology. Academic Press, San Diego, USA.

Linton A.H. (1987). Microbes, Man and Animals. John Wiley and Sons, Inc. New York.

١٠٨١

III

Cyanobacteria

الجزء الثالث
السيانوبكتريــا



فاصل ٣

بيان بالأشكال التى على ظهر هذه الصفحة

① مجهر مركب ، (٢-٥) أنواع مختلفة من السيانوبكتريا
② نوستوك *Nostoc* ، ③ كروكوكاس *Chroococcus*
④ أنابينا *Anabaena* ، ⑤ أوسيلاتوريا *Oscillatoria*

(الباب الرابع عشر)

تواجد السيانوبكتريا وأقسامها والعوامل المتحكمة فى نشاطها

المحتويـــات

الموضوع **الصفحة**

﴿الباب الرابع عشر﴾

تواجد السيانوبكتريا وأقسامها والعوامل المتحكمة فى نشاطها

مقدمـــة

السيانوبكتريا Cyanobacteria ، وقد تسمى أيضا بالبكتريا الخضراء المزرقة Blue-green bacteria ، هى مجموعة من كائنات مجهرية ، بدائية النواة ، سالبة لصبغة جرام ذاتية التغذية ، ممثلة للضوء كمصدر للطاقة مع انتاج أكسجين ، وهى من أقدم الكائنات التى ظهرت على الأرض فى فجر الحياة ، وذلك من حوالى ٢ مليار سنة من الوقت الحاضر ، وقد وجد منها أجناس حفرية مثل *Girvanella, Gloeocapsomorpha, Nostocites* ... etc.

وكانت السيانوبكتريا تعرف سابقاً باسم الطحالب الخضراء المزرقة Blue-green algae لإحتوائها على كلوروفيل أ مثل النباتات ، وتشابهها فى عملية التمثيل الضوئى مع الطحالب حقيقية النواة ، ولذلك وضعت السيانوبكتريا فيما سبق مع الطحالب ، ولكن ماتم من دراسات متعددة ، ومن تحليلات بيوكيميائية ، وفحص بالمجهر الإلكترونى (Pandey & Trivedi, 1996 and Kumar & Kumar, 1998) ، أوضح تماماً أن السيانوبكتريا، كائنات بدائية النواة مثل البكتريا ، وأنها تمثل الضوء كالطحالب حقيقية النواة ، وهى بذلك تمثل مرحلة تطور بين البكتريا بدائية النواة وبين الطحالب حقيقية النواة .

ورغم تشابه كل من السيانوبكتريا والطحالب فى عملية التمثيل الضوئى ، إلا أن السيانوبكتريا تتشابه مع البكتريا ، فى أن النواة بكل منهما عبارة عن حامض دنا DNA حلزونى مزدوج الخيوط ، دائرى ، بدون غلاف ، مرتبط بالغشاء السيتوبلازمى للخلية ، وأن الرايبوسومات بكل من السيانوبكتريا والبكتريا من نوع 70S ، وأن السيانوبكتريا والبكتريا ذات تركيب خلوى متشابه ، وأن الخلايا بكل منهما لاتحتوى على ميتوكوندريا أو جهاز جولجى أو تركيبات ذات أغلفة غشائية ، وأن الجدار الخلوى بكل من السيانوبكتريا والبكتريا يحتوى على حامض ميراميك .

وتتكاثر خلايا النوعين عادة بالانقسام الثنائى ، وإن كان عمر الجيل فى السيانوبكتريا ، أطول بكثير عن مثيله بالبكتريا الحقيقية ، حيث يصل عمر الجيل فى حالة *Anabaena & Nostoc* على سبيل المثال ، إلى حوالى ٢٠-٢٥ ساعة .

أولاً : تواجد السيانوبكتريا
Occurrence of Cyanobacteria

تمثل السيانوبكتريا أكبر وأكثر المجموعات إنتشاراً للبكتريا الممثلة للضوء ، ويوجد منها أكثر من ٢٠٠٠ نوع ، وتعيش فى أوساط طبيعية متعددة من المناطق القطبية الى المناطق المدارية ، وذلك بالأراضى والأنهار والمحيطات ، ويعود ذلك الى تعدد أنواع السيانوبكتريا ، وتباين خصائصها المورفولوجية والفسيولوجية ، وقدرتها على التلاؤم مع الوسط ، وتحمل ظروف بيئية متباينة ، كتحمل الحرارة المنخفضة بالثلوج ، والحرارة المرتفعة فى ينابيع المياه الساخنه ، وقلة الرطوبة والجفاف بالصحارى ، ووجود H_2S ، والنمو حتى فى التركيزات المنخفضة من الاضاءة ومن CO_2 .

كما أن السيانوبكتريا قادرة على تثبيت نتروجين الهواء الجوى ، وعلى التواجد بحالة منفردة أو متكافلة مع كائنات أخرى ، مما يعطى لها ميزة الانتشار والتواجد فى أوساط متعددة ، لتلعب بهذه الأوساط أدواراً بيئية هامة .

تواجد وأهمية السيانوبكتريا فى الأوساط البيئية المختلفة

١- فى البحار والمحيطات

تشارك السيانوبكتريا فى تكوين البلانكتون فى البحار والمحيطات ، وفى عمل تجمعات الكتل الوردية اللون* Blooms التى توجد على سطح المياه ، كما تشارك السيانوبكتريا فى توفير المادة العضوية ، وفى تثبيتها لأكثر من ربع كمية النتروجين المثبت (Capone & Carpenter 1982)** ، وبالتالى فإنها تزيد من خصوبة البحار .

ومن أجناس السيانوبكتريا التى تعيش بكثرة فى البحار ، *Trichodesmium* ، وهو يعتبر من أهم أجناس السيانوبكتريا المثبتة لنتروجين الهواء الجوى بالمحيطات .

ومن ناحية أخرى ، فقد تسبب بعض أنواع السيانوبكتريا التى تعيش بالبحار متاعب بالوسط ، مثل *Lyngbya majuscula* التى تفرز مواداً سامة .

٢- فى الأوساط المائية الغنية كالأنهار والبحيرات

يسود فى تلك الأوساط أجناس السيانوبكتريا التالية
Anabaena, Gloeotrichia, Nostoc, Oscillatoria, Rivularia, Scytonema.

---

* **Bloom** طبقة وردية اللون

مساحة ذات لون وردى توجد على سطح الماء ، بسببها وجود نموات غزيرة من البلانكتون ، خاصة الطحالب الحمراء

** **Capone D.G. and E.J. Carpenter, 1982.** Nitrogen fixation in the marine environment. **Science 21: 1140-1142.**

وتوفر هذه البكتريا بالوسط النامية به ، المواد العضوية والنتروجين المثبت . غير أن أنواع السيانوبكتريا المكونة لفجوات غازية ، مثل تلك التابعة لأجناس *Anabaena, Aphanizomenon, Gloeotrichia, Microcystis, Nodularia, Oscillatoria* ، تكون حصيرة Mat على سطح المياه ، ويصل سمكها لعدة سنتيمترات ، وقد تسبب هذه التجمعات من السيانوبكتريا فى البحيرات والمياه الساكنة مناظر مقززه ، وروائح كريهة ، ونقصا فى الأكسجين ، وقد تكوّن بعض المواد السامة .

٣- فى الأراضى الغدقة

فى الأراضى الغدقة المنزرعة أرزا بمصر (Yanni, 1991)* ، يسود بنسب كبيرة أنواع تابعة لأجناس *Anabaena, Calothrix, Nostoc* ، كما يتواجد بنسب قليلة أنواع تابعة لأجناس *Aulosira, Nodularia, Tolypothrix* .

وتوفر هذه السيانوبكتريا بأراضى الأرز حوالى ٤٠ كجم نتروجين / هكتار/ سنة (Yanni, 1991)* ، ويفسر البعض النمو الجيد لنبات الأرز فى بعض أراضى جنوب شرق أسيا التى لاتسمد بأسمدة نتروجينية ، الى نمو السيانوبكتريا بتلك الأراضى ، التى توفر للأرز ماتثبته من نتروجين ، وماتفرزه من بعض العناصر المشجعة للنمو .

٤- فى ينابيع المياه الساخنة

فى هذه الأوساط تسود أنواع السيانوبكتريا المحبة للحرارة المرتفعة ، مثل التابعة لأجناس *Chroococcus, Microcystis, Phormidium* ، ويعتبر النوع *Synechococcus lividus* من أكثر أنواع السيانوبكتريا تحملاً للحرارة المرتفعة ، ويستطيع أن ينمو عند درجة ٧٠°م مقارنة بالسيانوبكتريا العادية التى تتراوح درجة حرارة نموها المثلى لمعظم أنواعها مابين ٢٥-٥٠°م ، والتى تعتبر درجة حرارة ٥٦°م هى درجة حرارة نموها العظمى .

٥- فى الأوساط الجافة والملحية

فى الأراضى الصحراوية التى تتعرض لسقوط أمطار بين الحين والآخر أو للندى ، وعلى أسطح كثير من الصخور والمبانى بالمناطق المعتدلة والمدارية ، يوجد أنواع عديدة من أجناس السيانوبكتريا ذات الغلاف السميك المتحملة للجفاف وللضغوط الأسموزية ، مثل تلك التابعة لأجناس *Microcoleus, Nostoc, Plectonema, Schizothrix* ، كما ينمو على الحوائط الرطبة أنواع تابعة لأجناس *Oscillatoria, Scytonema, Tolypothrix* .

ومن الأنواع التى تتحمل ملوحة عالية ، وتتحمل أيضا وجود معادن ثقيلة بالوسط كالزنك والرصاص والنحاس والحديد ، أنواع ذات غلاف تتبع فصيلة Oscillatoriaceae .

***Yanni Y. 1991.** Potential of indigenous cyanobacteria to contribute to rice performance under different schedules of nitrogen application. **World J. Microbiol. Biotechnol. 7: 48-52.**

٦- فى تحولات الصخور

تنمو أنواع عديدة من السيانوبكتريا ، خاصة الأنواع وحيدة الخلية ، على أسطح الصخور وفى شقوقها ، حيث يتجمع قليل من المياه ويتوفر بعض الضوء ، ويؤدى تراكم ماتكونه السيانوبكتريا من مواد عضوية وماتفرزه من نتروجين ، الى نمو كائنات مجهرية أخرى ، مثل البكتريا والفطر .

ومع مضى الزمن ، فان ماتفرزه تلك الكائنات الدقيقة النامية من أحماض نتيجة لأيضها الغذائى، يساعد على ذوبان الصخور ببطء وتدريجيا ، مع تراكم المواد العضوية والمعادن الذائبة ، مما يهيىء وسطاً مناسباً لنمو الأشنات والحزازيات ، ثم نمو النباتات الأكثر رقياً .

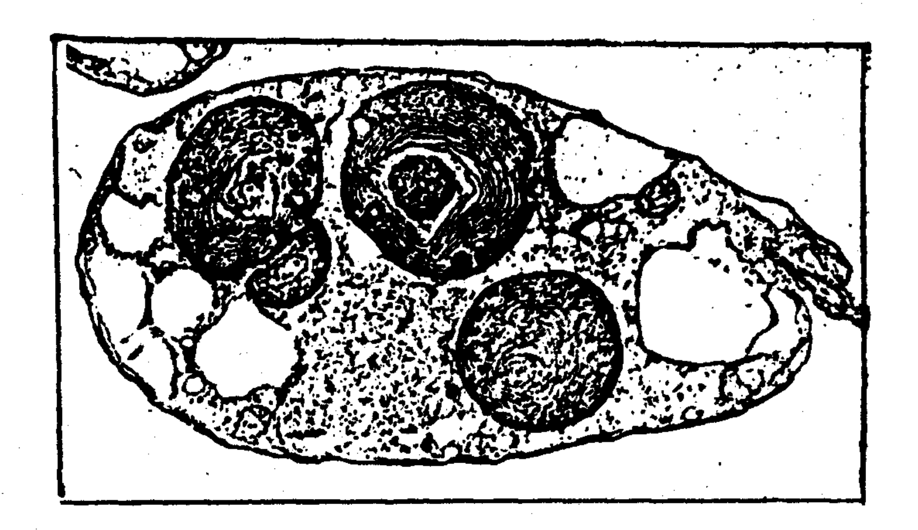
وبذلك تلعب السيانوبكتريا الخطوات الأولى ، فى تحول الصخور ، الى تربة صالحة لتتابع النمو النباتى عليها .

تعايش السيانوبكتريا تكافلياً مع الكائنات الأخرى Cyanobacterial symbiotic association

التكافل Symbiosis هو نوع من المعيشة التعاونية ، المشتركة الاجبارية ، بين نوعين من الكائنات . ويتم خلال هذه المعيشة المشتركة تبادل المنفعة بين الكائنين المتعايشين معاً ، وقد لوحظ تعايش السيانوبكتريا تكافلياً مع كثير من الكائنات الأخرى الدقيقة كالفطر والبروتوزوا ، والراقية النباتية والحيوانية ، وفى هذه المعيشة التكافلية المشتركة ، تقدم السيانوبكتريا للمتكافل معها نواتج ماتثبته من النتروجين ، بينما يقدم المتكافل للسيانوبكتريا ، نواتج أيضه الغذائى من سكريات ومواد معقدة .

ومن أمثلة المعيشة التكافلية بين السيانوبكتريا والكائنات الأخرى

- وجود *Gloeocapsa & Nostoc* كمشارك مع الفطر فى أشنات *Collema & Peltigera* .
- تعايش *Nostoc* مع الحزازيات بأجناس *Anthoceros & Blasia* .
- تعايش *Anabaena azollae* مع سرخس الأزولا *Azolla* sp. .
- تعايش *Anabaena cycadae* مع أشجار معراة البذور ، السيكاس *Cycas* .
- تعايش *Nostoc macrozamia* مع أشجار معراة البذور ، الماكروزاميا *Macrozamia* .
- تعايش *Nostoc punctiforme* مع شجيرات مغطاة البذور ، *Gunnera manicata* .
- تعايش *Cyanellae* مع البروتوزوا السوطية [شكل ١٤ (١)-١] *Cyanophora paradoxa,* و *Paulinella* sp. .
- وجود أجناس *Oscillatoria & Simonsiella* فى أمعاء الإنسان .



شكل ١٤ (١)-١ : صورة بالمجهر الالكترونى لقطاع رقيق بالبروتوزوا السوطية *Cyanophora paradoxa* تحتوى على متكافل داخلى من سيانوبكتريا *Cyanellae* .

× ٤٣٧٠

ويوضح الجدول التالى [١٤ (١)-١] ، نماذج من السيانوبكتريا المتكافلة مع بعض الكائنات الأخرى .

جدول ١٤ (١) - ١ : نماذج من السيانوبكتريا التكافلية

مميزات السيانوبكتريا	الأجناس المتكافلة	الكائن المشارك فى التكافل
وحيدة الخلية ، والتكاثر بالانقسام الثنائى	*Aphanocapsa*	الاسفنج البحرى ، وشعر الدب القطبى
	Gloeocapsa	الأشنات مثل *Collema*
	Gloeothece	الأشنات مثل *Collema*
	Synechococcus	الأشنات مثل *Collema*
	Cyanellae	بروتوزوا مثل *Paulinella*
وحيدة الخلية ، والتكاثر بالانقسام الثنائى و/أو الانقسام المتعدد	*Pleurocapsa*	بكتريا
	Hyella	أشنات
خيطية لاتكون هتيروسست والتكاثر بتجزئة الخيط أو بتكوين الهرموجونيا	*Phormidium*	الاسفنج البحرى
	Oscillatoria	أمعاء الإنسان
خيطية تكون هتيروسست ، وإنقسام الخلية فى مستوى واحد	*Anabaena*	الأزولا ، السيكاس
	Nostoc	الأشنات ، الحزازيات ، السيكاس ، وجانيرا *Gunnera*
خيطية تكون هتيروسست ، وإنقسام الخيط فى أكثر من مستوى	*Fischerella*	أشنات
	Richella	دياتومات
	Scytonema	أشنات

ثانياً : أقسام السيانوبكتريا *
Divisions of Cyanobacteria

خلايا السيانوبكتريا ، بدائية النواة ، سالبة لصبغة جرام ، هوائية ، الحركة إن وجدت إنزلاقية ، وهى ذاتية التغذية (قليل منها عضوى التغذية) ، وممثلة للضوء تحت ظروف هوائية مع إنتاج أكسجين ، وعدد كبير منها مثبت لنتروجين الهواء الجوى .

وتمثل السيانوبكتريا قسماً رئيسياً فى مملكة البروكاريوتا* (كما جاء فى مرجع برجى ، William, 1994) ، وعلى أساس صفاتها المورفولوجية ، **فإن السيانوبكتريا تقسم الى خمسة رتب** . وتضم هذه الرتب حوالى ١٥٠ جنساً و ٢٠٠٠ نوعاً .

والخمسة رتب هى

1. Or. Chroococcales

وتضم هذه الرتبة أجناس السيانوبكتريا وحيدة الخلية .

وتتكاثر بالانقسام الثنائى والتبرعم ، دون أن تكون خلايا بايوسايت .

من أجناس هذه الرتبة : *Gloeobacter, Gloeothece, Synechococcus*

2. Or. Pleurocapsales

تضم هذه الرتبة أجناس السيانوبكتريا وحيدة الخلية .
وتتكاثر بالانقسام المتعدد ، وتكون خلاياها البايوسايت .
من أجناس هذه الرتبة : *Dermocarpa, Pleurocapsa*

3. Or. Oscillatoriales

تضم هذه الرتبة أجناس السيانوبكتريا عديدة الخلايا الخيطية ، ويتكون الخيط البكتيرى من خلايا خضرية فقط ، ولايتكون بالخيط خلايا هتيروسست .

من أجناس هذه الرتبة : *Lyngbya, Oscillatoria, Phormidium, Spirulina*

4. Or. Nostocales

تضم هذه الرتبة أجناس السيانوبكتريا عديدة الخلايا الخيطية ، التى تكون هتيروسست .

وتنقسم خلايا الخيط فى مستوى واحد ، قد تتحول بعض خلايا الخيط الى جراثيم ساكنة تعرف بالأكينيت .

من أجناس هذه الرتبة : *Anabaena, Calothrix, Nostoc*

---

* راجع المجموعات البكتيرية (البكتريا الممثلة للضوء المنتجة للأكسجين) ، الباب السابع ، الفصل الثانى ،
وأنظر جدولى [٧ (٢) - ٣٤ ، ٣٥] ، ص ص ٥١٤ و ٥١٥ .
وأنظر الباب الخامس عشر - خلية السيانوبكتريا ,

5. Or. Stigonematales

تضم هذه الرتبة أجناس السيانوبكتريا عديدة الخلايا الخيطية التى تكون هتيروسست .

وتنقسم خلايا الخيط فى أكثر من مستوى ، وبعض الانو ع تكون أكينيت .

من أجناس هذه الرتبة : *Fischerella, Stigonema* .

راجع التفصيلات الخاصة بأقسام السيانوبكتريا ، بالباب السابع ، الفصل الثانى ، البكتريا الممثلة للضوء المنتجة للأكسجين ، ص ص ٥١٣ - ٥٢٠ .

ثالثاً : العوامل المتحكمة فى نشاط السيانوبكتريا
Factors Affecting Cyanobacterial Activity

تلاؤم السيانوبكتريا مع الوسط : Adaptability of Cyanobacteria with Environment

تتواجد السيانوبكتريا في أوساط متعددة ، وينمو فى الوسط البينى مايتلاءم معه من أنواع السيانوبكتريا ، ويتأثر سلباً أو إيجابا نمو ونشاط أنواع السيانوبكتريا النامية ، بظروف الوسط البيئى ، ومايحدث به من تغيرات ، خاصة وأن أغلب أنواع السيانوبكتريا تنمو على سطح الوسط .

وتقوم بعض أنواع السيانوبكتريا بعمل تغيرات مورفولوجية أو تركيبية بخلاياها ، لتتلاءم مع ظروف الوسط النامية به ، خاصة فى وجود محددات للنمو ، كالظلام أو الجفاف أو الملوحة ، أو وجود نقص فى بعض العناصر كالنتروجين والفوسفور والحديد . فنجد مثلاً أن الأنواع المتحركة من السيانوبكتريا ، عند قلة الضوء تتحرك نحو مصدره ، وفى الأنواع المكونة للبلانكتون ، فإنه يزداد بها عدد الفجوات الغازية عند نقص شدة الضوء ، وتتحرك أنواع السيانوبكتريا التى تعيش بالبحار حركة حلزونية صعوداً وهبوطاً مع مصدر الضوء والغذاء ، بينما نجد أن الأنواع الشاطئية من السيانوبكتريا غير متحركة .

وتتأثر نسبة ماتحتويه خلايا السيانوبكتريا من الصبغات الزرقاء والصبغات الحمراء بنوع الضوء الذى تتعرض له الخلايا فى الوسط الموجوده به ، ففى وجود الضوء الأحمر يسود تخليق صبغات الفايكوسيانين الزرقاء بخلايا السيانوبكتريا ، وفى الضوء الأخضر والأزرق يسود تخليق صبغات الفايكو إرثرين الحمراء (أنظر ص ١١٠٠) ، وهذا التلاؤم اللونى Chromatic adaptation فى عمليات تكوين الصبغات الضوئية ، مع الضوء الذى تتعرض له خلايا السيانوبكتريا ، يوفر للخلايا الفرصة الكاملة للاستفادة من نوع الضوء الواقع عليها بالوسط الذى تعيش به ، سواء أكانت هذه الخلايا موجودة على سطح التربة ، أو واقعة تحت غطاء نباتى ، أو موجودة فى أعماق البحار (أنظر التمثيل الضوئى بالسيانوبكتريا ، ص ص ١٠٩٩ - ١١٠٢) .

ورغم أن السيانوبكتريا تنمو فى وسط مائى لاتقل نسبة الرطوبة به عن ٩٣% ، إلا أن كثيراً من الأنواع الأرضية ، قادر على تحمل فترات الجفاف التى قد تتعرض لها بالوسط . وتتحمل السيانوبكتريا الجفاف ، كما فى حالة *Nostoc commune* مثلاً ، بتكوين بروتينات حامضية بالخلية تصل نسبتها الى ٢٠% من بروتين الخلية الكلى . وعند إعادة الابتلال ، تعاود خلايا النوستوك الموجودة نشاطها ، بادئة بعمليات التنفس ، ثم التمثيل الضوئى ، وأخيراً تقوم بتثبيت النتروجين الجوى فى خلايا الهتيروسست الجديدة التكوين بخيط السيانوبكتريا .

وتتحمل خلايا السيانوبكتريا المحبة للملوحة ، التركيزات العالية من الملوحة بأكثر من طريقة فسيولوجية ، من تلك الطرق تجنب التأثير السام الضار للأيونات غير العضوية مثل أيونات الـ Na^+ الموجودة بداخل الخلية باستخدام نظم نقل نشطة ، أو بتخليق مركبات حامية من الضغط الأسموزى المرتفع Osmoprotective compounds ، تعمل على موازنة الضغط الأسموزى الذى تتعرض له الخلية .

وتزداد أعداد خلايا الهتيروسست بخيط السيانوبكتريا ، عند حدوث نقص في نسبة النتروجين بالوسط ، لتعويض نقصه عن طريق زيادة التثبيت النتروجيني بالهتيروسست ، وتزداد عدد الشعيرات بالخلايا عند نقص نسبة الفوسفور ، وتحدث تغيرات في مستوى المواد الغذائية المخزنة بالخلية ، من جليكوجين ، وسيانوفايسين وعديدات الفوسفات ... الخ ، بتغير ظروف الوسط ، وكل ذلك لتتلاءم السيانوبكتريا مع ظروف الوسط العائشه به .

وكثير من السيانوبكتريا قادر على إفراز سديروفورات Siderophores* ، عند ماتوجد في وسط به كميات محدودة من الحديد أو حديد غير ميسر ، حيث تقوم مركبات السديروفور بجذب الحديد الى الخلية مع العمل على تحويله الى حديد ميسر ، ومن السديروفورات التي تفرزها خلايا السيانوبكتريا Hydroxamates and Catechol siderophores .

العوامل المؤثرة على نمو السيانوبكتريا : Factors affecting cyanobacterial growth

تنمو السيانوبكتريا جيداً في الوسط المتعادل بالأوساط المائية وبالأراضي ، كما تستطيع السيانوبكتريا النمو في الوسط المائل للقلوية حتى قد يد ٩,٠ ، وبالوسط الحامضي حتى ق يد ٦,٠ ، وبزيادة الحموضة عن ذلك يقل نمو السيانوبكتريا بشكل ملحوظ ، حتى يتوقف عندما تقل ق يد عن ٥,٠ .

وبالإضافة الى تأثير حموضة الوسط ، فان نمو السيانوبكتريا يتأثر أيضاً بكمية الفوسفات الميسرة الموجودة بالوسط ، ففي الوسط المائي يتأثر نمو السيانوبكتريا كثيراً بمدى توفر الفوسفات بوسط النمو .

وبالإضافة إلى إمكانية التحكم في نمو السيانوبكتريا بواسطة حموضة الوسط ، وبكمية الفوسفات المتاحة في وسط النمو المائي ، فإن التحكم في نمو السيانوبكتريا في حمامات السباحة وبالأوساط المائية المختلفة ، يتم بطرق أخرى عديدة ، تعتمد على طبيعة وسط النمو ، وعلى نوع سلالة السيانوبكتريا الموجودة . من هذه الطرق ، ثلاث وسائل رئيسية هي استخدام المواد الكيميائية ، واستخدام العوامل البيولوجية ، واستخدام الطرق الفيزيائية .

---

* Siderophores : السديروفورات عبارة عن مخلبيات حديد تفرزها الكائنات الدقيقة وترتبط بجدار خلية الكائن ، وهي ذات وزن جزيئي منخفض ، عادة أقل من ١٥٠٠ دالتون ، وتعمل السديروفورات على تيسير الحديد ونقله من الوسط الخارجي الى داخل خلية الكائن .

أ - المواد الكيميائية* : Chemicals

١- المعادن

يتأثر نمو ونشاط السيانوبكتريا بالمعادن الثقيلـــة ، مثـل الفضـــة والحديـد والزنــك والرصاص والزئبق ، غير أن استعمال هذه المواد للتحكم فى نمو السيانوبكتريا ، يعتبر عمـــلا محدوداً من الناحية العملية ، لما تسببه هذه المعادن الثقيلة من تلوث بيئى ضـار ، كما أن مـن المتاعـب الأخرى التى تواجه استخدام هذه المعادن فى مقاومة الســيانوبكتريا ، هــى أن هـذه المواد تؤثر سلباً على الكائنات الأخرى النافعه ، بدائية وحقيقية النواة ، الموجودة بالوسط .

ويعود التأثير القاتل لأيونات المعادن الثقيلة على الخلايا ، إلى تفاعل تلك المعادن مـــع بروتين الخلية وترسيبها له . والطريقة الشائعة الاستخدام فى مقاومة السيانوبكتريا كيميائياً ، هــى استخدام مركبات النحاسيك Cu^{2+} ، التى غالباً ماتكون فى صورة كبريتات نحاســيك $CuSO_4$. وتضاف كبريتات النحاس الى الوسط المائى ، فى حدود ٠,١ الى ٠,٥ جــزء فــى المليـون ، ويحتاج مقاومة الطحالب حقيقية النواه الموجودة بالمياه ، الى عشرة أضعاف ذلك التركيز .

ويستخدم الآن مركبات النحاس العضوية لمقاومـــة الســيانوبكتريا فــى أرض الأرز ، وتؤثر هذه المواد على السيانوبكتريا ، بتثبيطها لعملية التمثيل الضوئى بالخلايا ، ومن أمثلة هـذه المواد مركب Ricetrine وهو عبارة عن Cu-tri ethanol amine complex .

٢- الكلـــور**

يستعمل الكلور بنجاح فى معالجة مياه حمامات السباحة مما بها من كائنـــات دقيقــة . ويضاف الكلور للمياه بتركيز واحد جزء فى المليون ،.وهذا يعتبر كافيا لتطهير ميــاه حمامــات السباحة من السيانوبكتريا والميكروبات الضارة .

ويستعمل الكلور Cl_2 ، كغاز بالحقن ، أو كأملاح الهيبوكلوريت ClO^- ، التــى تتــأين بالماء الى كلور وأكسجين نشط . ويعود تأثير الكلور الضار على خلايا الكائنات الدقيقة ، إلــى تفاعله المباشر مع بروتين الخلية وإيقاف أنشطتها ، وأيضا الى تأثير الأكسدة بالأكسجين النشط ، الناتج من التأين عند تفاعل غاز الكلور مع الماء .

٣- الأوزون

يعتبر الأوزون O_3 من الكيميائيات التى تقضى على السيانوبكتريا وكائنات البلانكتـــون الأخرى الموجودة بالمياه ، ويستعمل غاز الأوزون حقنا بالمياه بتركيز ٠,١ ملليجرام/لتر مــاء ، وهو عامل مؤكسد قوى لمحتويات الخلية ، فيوقف نشاطها .

---

* أنظر الباب الرابع ، الفصل الثالث ، تأثير المواد الكيميائية

** أنظر تأثير الكلور ومركباته ص ١٣٣ ومايليها

٤- المبيـــدات : Pesticides

السيانوبكتريا ، مثلها مثل خلايا كائنات بدائية النواه ، غير حساسة لمجموعة كبيرة من مبيدات الآفات ، ولكنها حساسة لبعض مبيدات الحشائش ، التى تثبط عملية التمثيـــل الضوئـــى بالخلية ، مثل مادة Endothall .

ومن المبيدات الأخرى التى تؤثر على السيانوبكتريا :

1) Propanil
2) 2,3-dichloro- 1,4-naphtho quinone
3) 3,4- dichloro aniline

والمركب رقم ٢ غير سام للأسماك ، ومتخصص فى تثبيط السيانوبكتريا ، ويســـتعمل بتركـــيز ١ جزء فى المليون .

ب – العوامل البيولوجية : Biological agents

١- المفترسات : Predators

تتعرض السيانوبكتريا للإفتراس بواسطة مجموعات عديـــدة مـــن الكائنـــات ، منـــها البروتوزوا، والنيماتودا ، والحَلَم ، وديدان الأرض ، والمن . وقـــد لوحـــظ أن ديـــدان الأرض Earthworms وهى من الديدان الحلقية التى توجد بالأراضى ، تستهلك فى غذائها الســـيانوبكتريا والطحالب حقيقية النواة ، وتزيلها من الأراضى الغنية بالمواد العضوية .

كما أن أبو زنيبة Tadpoles وهو أحد أطوار دورة حياة الضفدع بالماء ، يستهلك فـــى غذائه كميات ضخمة من السيانوبكتريا الموجودة بالوسط المائى .

٢- الكائنات الدقيقة والفاجات

تتعرض السيانوبكتريا لمهاجمة كائنات دقيقـــة عديـــدة ، منـــها الفطريـــات والبكتريـــا والفيروسات (السيانوفاج Cyanophage) . وهذا يفسر التباين فى أعداد السيانوبكتريا من موقـــع لآخر بالأراضى ، أو إختفاء السيانوبكتريا المفاجىء من أحد الحقول .

السيانوفاجات التى تهاجم السيانوبكتريا ، تشبه فى صفاتها البكتريوفاجات التى تـــهاجم البكتريا ، وتتواجد السيانوفاجات مع السيانوبكتريا فى الأنهار والبحيـــرات والأراضـــى ، وقـــد عزلت أنواع عديدة من السيانوفاجات التى تهاجم السيانوبكتريا من الأماكن الطبيعية التى تتواجـــد بها السيانوبكتريا ، ومن أجناس السيانوبكتريا التى تهاجمها السيانوفاجات :
Anabaena, Cylindrospermum, Nostoc, Oscillatoria .... etc.

جـ – الطرق الفيزيائية : Physical methods

تستخدم الأشعة فوق البنفسجية فى مقاومة السيانوبكتريا ، الملوثة للمبـــانى الأثريـــة ، والنصب التاريخية . وهذه الطريقة لاتوفر الإزالة الكاملة للملوثات ، لأن تأثير الأشـــعة يكـــون محدود الأثر بالنسبة للكائنات الدقيقة والسيانوبكتريا الموجودة بالشقوق والتصدعات التى بمبـــانى الآثار . ويمكن زيـــادة كفـــاءة عمليـــة التعقيـــم باســـتخدام غـــاز الأوزون المولّـــد بالإشـــعاع Radiation-generated O_3 .

(الباب الخامس عشر)

خلية السيانوبكتريا

المحتويـــات

الصفحة

الموضوع

المحتويات

﴿الباب الخامس عشر﴾

خلية السيانوبكتريا Cyanobacterial Cells

أولاً : الحركة والشكل المورفولوجى للسيانوبكتريا
Motility and Morphology

الحركـــة : Motility

خلايا السيانوبكتريا خالية من الأسواط ، وأغلب الأنواع وحيدة الخلية غير متحركـــة ، أما الأنواع الأخرى المتحركة ، وحيدة الخلايا والخيطية ، فإن حركتها زاحفـــة علـــى الأســـطح الصلبة ، وبريمية حول محور الخلية الطولى فى السوائل .

وتشمل الحركة أيضاً بعض الخلايا الخاصة التى تكونها السيانوبكتريا مثل الهرموجونيا ، وكثـــير من الخلايا القزمية (البايوسايت) Baeocytes .

ويساعد على حركة خلايا السيانوبكتريا ، ماتفرزه تلك الخلايـــا مـــن مـــواد لزجـــة ، وماتقوم به من إنقباضات وإنبساطات مسببة لتموجات طولية تساعد على حركة الخلايا ، إضافـــة الى تأثير عوامل الجذب السطحى والضغط الأسموزى . وقد أوضحت دراسة التركيبات الخلويـــة الدقيقة ، وجود لويفات Fibrils لولبية داخل الجدار الخلوى ، تساعد فى عملية الحركة .

حركة الخلايا يمكن أن تكون أمامية للأمام ، أو عكسية للخلف ، كما أن أغلب خلايـــا السيانوبكتريا منتحية للضوء Phatotactic ، حيث تتجمع فى الأماكن ذات الإضاءة المناسبة .

الشكل المورفولوجى لخلايا السيانوبكتريا : Morphology of Cyanobacterial Cells

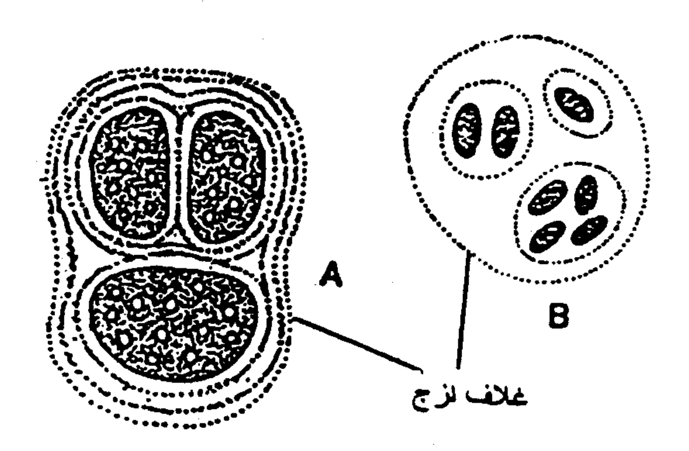
الحجم والشكل والتجمع

خلايا السيانوبكتريا أكبر حجماً من خلايا البكتريا الحقيقيـــة ، ويـــتراوح قطـــر خليـــة السيانوبكتريا مابين ١,٠ الى ١٠,٠ ميكرومتر ، وتختلف خلايا السيانوبكتريا كثيراً فـــى الشـــكل والمظهر حسب النوع ، فمنها ماتكون خلاياه كروية الشكل مثـــل *Chroococcus* ، أو تكـــون عصوية ، أو حلزونية مثل *Anabaena spiroides* ، أو مستدقة الأطراف مثل *Rivularia* .

ومن خلايا السيانوبكتريا ماهو وحيد الخلية مفرد ، ومن هذه الخلايا المفردة (الكرويـــة أو العصوية) ، مايتجمع مع بعضه ويكون مستعمرة ، وترتبط خلايا المســـتعمرة مـــع بعضـــها بأغلفة رقيقة عديدة الطبقات ، تنشأ من إتصال الطبقات الخارجيـــة للجـــدار الخلـــوى ، ومثلـــها مستعمرات خلايا *Gloeocapsa* [شكل ١٥ (١)- ١] .

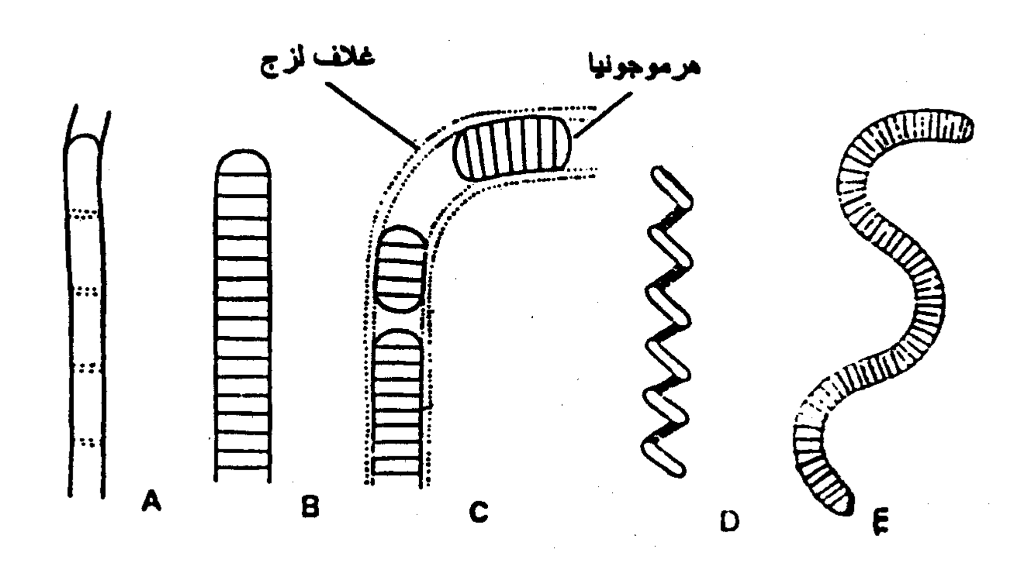
قد تتصل خلايا بعض أنواع السيانوبكتريا ببعضها إتصالاً وثيقاً بمساحات اتصال كبيرة بين الخلايا ، مكونة لسلسلة طويلة خيطية من الخلايا دون أن يكون لها كابسول ، ويسمـــى ذلك

التجمع ترايكوم Trichome [شكل ١٥ (١) - ٢] . قد تكون هذه الترايكومات مستقيمة غير متفرعة كما فى جنس *Oscillatoria* ، أو حلزونية غير متفرعة كما فى جنس *Spirulina* ، أو تكون الترايكومات متفرعة كما فى أجناس *Scytonema, Stigonema, Tolypothrix* .



شكل ١٥ (١)- ١ : سيانوبكتريا كروية الشكل متجمعة فى مستعمرات

A : Gloeocapsa
B : Gloeothece

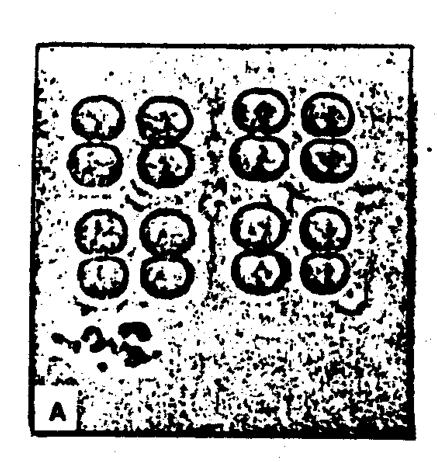


شكل ١٥ (١)- ٢ : سيانوبكتريا مجتمعة فى خيوط

A : Phormidium
B : Oscillatoria
C : Lyngbya
D : Spirulina
E : Arthrospira

وقد تتصل خلايا السيانوبكتريا ببعضها مكونة لسلسلة من الخلايا ، محاطة بكابسول جيلاتينى ، دون أن تكون الخلايا شديدة الالتصاق ، ومتصلة ببعضها بمساحات إتصال صغيرة نسبياً ، ويسمى ذلك التجمع خيطاً Filament ، كما فى جنس *Lyngbya* [شكل ١٥ (١) - ٢] .

قد يتركب الخيط (أو الترايكوم) من خلايا متشابهة كما فى أجناس *Arthrospira, Oscillatoria, Spirulina* ، أو يوجد بالخيط خلايا ذات تركيب ووظائف مميزة عن باقى خلايا الخيط ، مثل خلايا الأكينيت فى جنس *Cylindrospermum* ، وخلايا الهتيروسست فى أجناس *Anabaena & Nostoc* [شكل ١٥ (١)- ٣ و ٤]



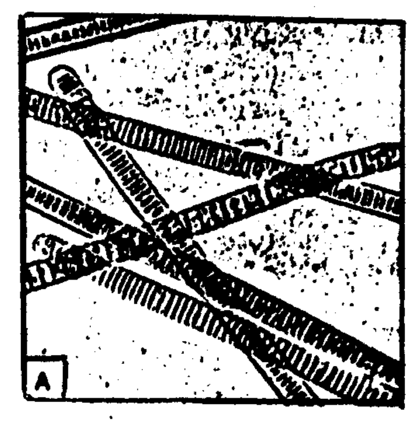


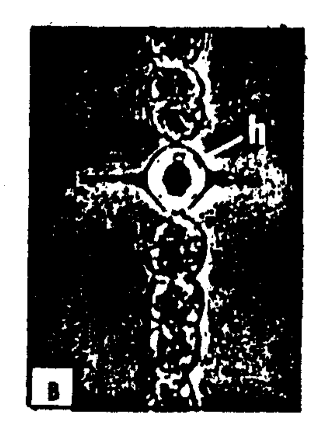
شكل ١٥ (١)- ٣: نماذج لخلايا سيانوبكتريا وحيدة الخلية كروية

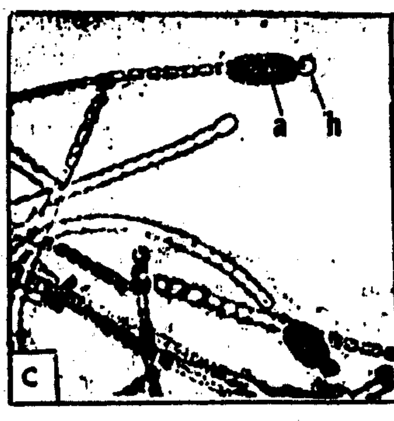
A – *Merismopedia glauca*
الخلية من ٣-٥ ميكرومتر فى القطر ، وتعيش الخلايا متجمعة فى مستعمرات مسطحة كالطبق ، ويوجد هذا النوع بكثرة فى بلانكتون بحيرات المياه العذبة .

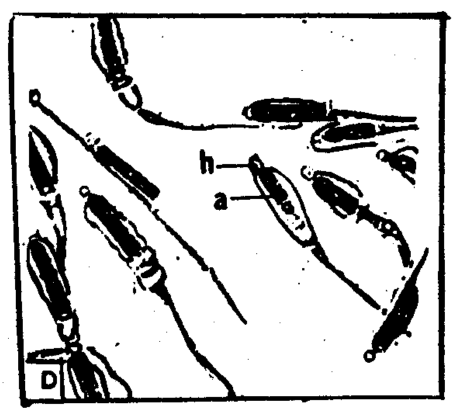
B – *Gloeocapsa rupestris*
الخلية من ٦-٩ ميكرومتر فى القطر ، ومحاطة بغلاف ، وتتجمع الخلايا فى مستعمرات . ويوجد هذا النوع من الطحالب على أسطح الصخور المبللة بالمياه ، وفى الأراضى الخندقة ، وتتجمع مستعمرات الخلايا مكونة كتلاً جيلاتينية ، غالباً صفراء الى بنية اللون .

نماذج من سيانوبكتريا خيطية









شكل ١٥ (١)- ٤: نماذج لسيانوبكتريا خيطية

Oscillatoria limosa – A
يتكون الخيط من خلايا خضرية فقط ، قطرها من ١٢ الى ١٨ ميكرومتر .

Anabaena planktonica – B
يتكون الخيط من
١ -خلايا خضرية قطرها من ١٠ الى ١٥ ميكرومتر وبها فجوات غازية (مناطق فاتحة بالخلية)
٢- هيتروسست (h) ، وتمتاز هتيروسيست هذا الجنس بأن لها امتدادات جانبية جيلاتينية

Cylindrospermum majus – C
يتكون الخيط من
١- خلايا خضرية صغيرة الحجم قطرها من ٣ إلى ٥ ميكرومتر
٢- هتيروسست (h) دائماً طرفية ، وحجمها متوسط .
٣- أكينيت (a) قرب الطرف ، كبيرة الحجم طولها من ٢٥ الى ٣٠ ميكرومتر .

Gloeotrichia echinulata – D
يتكون الخيط من
١- خلايا خضرية قطرها من ٨ الى ١٠ ميكرومتر ، وتقل فى العرض على إمتداد طول الخيـط ، لتستدق فى نهاية الخيط
٢- هيتروسست (h) طرفيه قطرها من ٨ الى ١٠ ميكرومتر
٣- أكينيت (a) قطرها ١٠ – ٢٠ ميكرومتر ، وطولها من ٤٥ الى ٥٠ ميكرومتر .

ثانياً : التركيب البنائى لخلايا السيانوبكتريا
Structure of Cyanobacterial Cells

التركيب البنائى

تتركب خلية السيانوبكتريا [شكل ١٥ (٢)-١] ، مثل خلية البكتريا ، من مجموعة من التركيبات ، وفى هذا الخصوص يتشابه التركيب البنائى ومكونات كل تركيب موجود بخلايا السيانوبكتريا ، مع ذلك الخاص بالتركيب المقابل الموجود بخلايا البكتريا السالبة لصبغة جرام ، ويمكن الرجوع إلى التفصيلات الخاصة بتلك التراكيب ، فى الجزء المتعلق بتركيب الخلية البكتيرية بالباب الخامس من هذا الكتاب ، وسنقتصر هنا ، على ذكر الخصائص المميزة لخلايا السيانوبكتريا .

وكما يتضح من الشكل [١٥ (٢)-١] ، فإن تركيب خلية السيانوبكتريا ، من الخارج الى الداخل ، هو كالآتى

الغلاف Sheath

فى معظم أنواع السيانوبكتريا ، نجد أن الخلية محاطة بغلاف جيلاتينى عديد السكريات ، يحمى الخلية من الجفاف . قد يكون الغلاف رقيقاً ويسمى كابسول ، أو سميكاً ويسمى غلاف ، وذلك حسب النوع وظروف الوسط ، حيث يختلف سمك الغلاف بإختلاف ظروف النمو.

قد يحيط الغلاف بالخلية المفرزة له ، أو يحيط الغلاف بسلسلة خيط الخلايا ، وقد يتكون الغلاف من عدة طبقات كما فى *Nostoc muscorum* ، وفى بعض أنواع السيانوبكتريا مثل *Tolypothrix tenuis* نجد أن طبقات الغلاف تحتوى على لويفات Fibrils ، بقطر يتراوح بين ٦-١٣ ميكرومتر ، وتتكون اللويفات من مواد شبيهة بسليلوز جدر الخلايا النباتية .

الجدار الخلوى : Cell wall

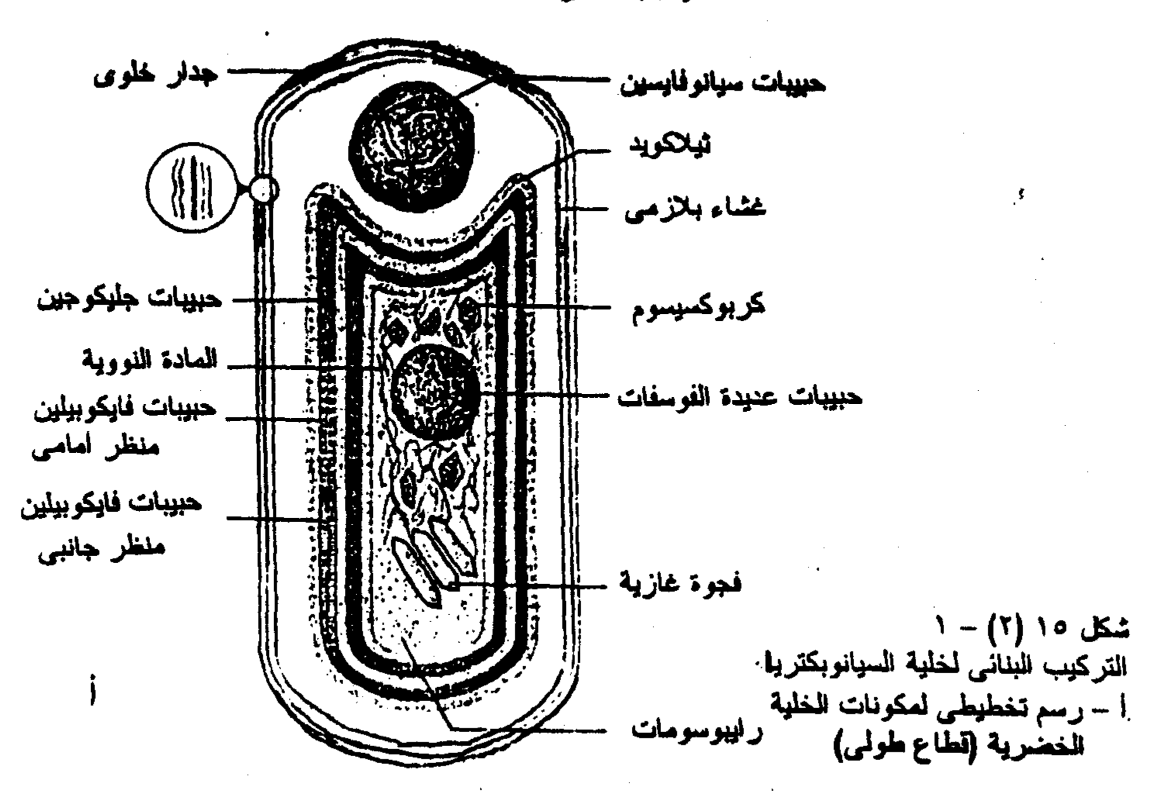
يقع الجدار الخلوى للسيانوبكتريا بين الغلاف والغشاء السيتوبلازمى للخلية . والجدار ذو تركيب معقد يشبه فى ذلك تركيب جدار خلية البكتريا ، فيحتوى الجدار على حامض ميراميك وحامض داى أمينوبيميليك ، وجلوكوز أمين ، والانين ، وجلوتاميك ، وكما نعلم فإن حامض الميراميك وحامض الداى أمينو بيميليك ، لايوجدان إلا فى خلايا البروكاريوتا فقط .

وعادة مايتركب الجدار من أربعة طبقات

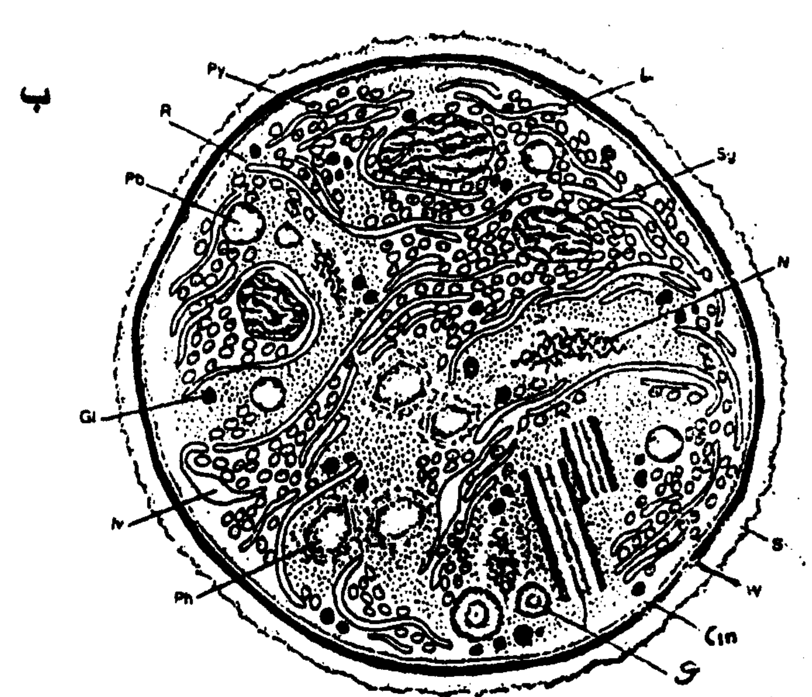
- الطبقة الخارجية وتتكون من ليبيدات عديدة السكريات ، وهى ذات بناء كروى حبيبى بعكس التركيب الليفى الموجود بالطبقات الداخلية .
- الطبقة الثانية والثالثة ويغلب فيهما وجود الببتيدوجلوكان .
- بينما تحتوى الطبقة الرابعة (المجاورة للغشاء السيتوبلازمى) على بروتينات ولبيدات عديدة السكريات .

وتوجد طبقة خامسة ليفية ، فى جدر بعض الأجناس مثل *Pleurocapsa* ، وتلعب هذه الطبقة دورا هاما فى عملية الانقسام الثنائى للخلية ، وفى تكوين خلايا تكاثر .

التركيب البنائى لخلية السيانوبكتريا



شكل ١٥ (٢) - ١
التركيب البنائى لخلية السيانوبكتريا.
أ - رسم تخطيطى لمكونات الخلية الخضرية (قطاع طولى)



ب - رسم تخطيطى لمكونات خلية السيانوبكتريا (قطاع عرضى)

صفائح رقيقة .... L: Lamellae	Py : Phycobilisomes ..... جسيمات فايكوبيلين
حبيبات سيانوفايسين Sg: Structured cyanophycin granules	R : Ribosomes .... رايبوسومات
بلازم نووى .... N : nucleoplasm	Pb : Polyphosphates ... حبيبات عديدة الفوسفات
غـــــــلاف .... S : Sheath	Gl : Glycogen granules ... جسيمات جليكوجين
جدار خلوى .... W : Cell wall	IV : Intralamellar vesicles .... حويصلات بينية
غشاء سيتوبلازمى... Cm : Cytoplasmic membrane	Ph: Polyhedral bodies . جسيمات عديدة السطوح
فجوة غازية .... G : Gas vacuole	

وبالتحليل الكيميائى لمكونات بعض الخلايا ، مثل خلية *Anacystis nidulans* ، وجد أن جدار الخلية يحتوى على حوالى ٢٤% سكريات (أهمها المانوز والجلوكوز) ، و ٩% نتروجين كلى ، و ٠,١% فوسفور كلى ، و ٢٧% بروتين ، و ٣٦% لبيدات .

وقد لوحظ أن بعض خلايا السيانوبكتريا ، مثل *Gloeocystis nostochinearum* و *Cyanophora paradoxa* ، المتكافلة داخل كائنات أخرى، ليس لها جدار خلوى ، لفقدها القدرة على تخليق مكونات الجدار .

الشعيرات ، البيلى : Pili (*sing.* Pilus); Fimbriae (*sing.* Fimbria)

تحتوى خلايا كثير من السيانوبكتريا ، على زوائد محيطية Peritrichous ، تمتد من سيتوبلازم الخلية إلى خارجها ، تسمى شعيرات Pili ، كما فى أنواع
Anacystis nidulans, Microcystis firma & Synechocystis spp.

والبيلى عبارة عن خيوط طويلة صلبة ، غير ملتوية ، مجوفة ، يتراوح سمكها مابين ٧٠ الى ١٠٠ انجستروم ، أما طولها فيختلف كثيرا .

تتشابه البيلى الموجودة بالسيانوبكتريا ، مع تلك الموجودة بالبكتريا السالبة لصبغة جرام ، وتتكون البيلى من وحدات بروتينية ذات خواص أنتيجينية ، تسمى بيلين Pilin ، وهذه الوحدات عبارة عن أحماض أمينية مع جلوكوز أمين .

ويوجد من البيلى عدة أنواع ، وكل نوع يقوم بوظيفة معينة ، فمنها مايعمل على لصق الخلايا ببعضها ، ومنها مايساعد الخلية على حركتها الزاحفة ، ومنها أنواع أطول وأعرض من أنواع البيلى الأخرى ، وينتهى طرفها بعقدة Knob ، وتعرف بالشعيرات الجنسية أو بشعيرات الإخصاب Sex Pili, F-Pili ، وتلعب شعيرات الإخصاب ، دورا هاما عند حدوث تزاوج بين خلايا السيانوبكتريا ، حيث تعمل تلك الشعيرات كأنابيب إقتران ، تمر من خلالها المادة الوراثية (الدنا) DNA ، من الخلية المانحة الى الخلية المستقبلة .

الغشاء البلازمى (الغشاء السيتوبلازمى) : Plasma membrane

الغشاء البلازمى يلى الجدار الخلوى ، وسمك الغشاء فى المتوسط حوالى ٨٠ A° ، وإن كان قد يصل الى ١٥٠ A° فى بعض الأنواع مثل *Anacystis nidulans* ، وهو حامضى التأثير لإرتفاع محتواه من حامض الرنا RNA .

ويتركب الغشاء البلازمى ، مثل البكتريا ، من طبقة مزدوجة من الفوسفولبيدات ، يتداخل معها حبيبات من البروتين ، وذلك فى بناء موزاييكى . وإضافة الى ذلك ، يوجد بالغشاء البلازمى تركيبات إضافية فى صورة حبيبات تقع على السطح الداخلى للجدار الخلوى وعلى طول إمتداده ، وتعمل تلك الحبيبات على تخليق لويفات تعمل على زيادة الالتصاق مابين الغشاء البلازمى وجدار الخلية .

يلعب الغشاء البلازمى دورا حيويا فى حياة الخلية ، فهو الموقع الفعال فى عمليات النفاذية من والى الخلية ، وفى التنفس ، وفى تخليق مكونات جدار الخلية ، وتكوين الثيلاكويدات الحاملة لصبغات التمثيل الضوئى ، ويوجد به الميسوسوم ذو الدور الفعال فى عمليات الانقسام الثنائى للخلية ، وكذلك يساعد الغشاء البلازمى فى المحافظة على تكامل الخلية وحمايتها من تاثير الضغط الأسموزى .

البروتوبلازم

البروتوبلازم يلى الغشاء البلازمى للخلية ، وفى خلايا البروكاريوتا ، ومنها السيانوبكتريا ، فإن البروتوبلازم غير مميز الى سيتوبلازم ونواه

ويضم البروتوبلازم التركيبات التالية

١- الثيلاكويدات (الأكياس المسطحة) Thylakoids

الثيلاكويدات هى وحدات جهاز التمثيل الضوئى بالخلية (أنظر ص ١٠٩٩) ، وهى عبارة عن صفائح Lamellae قرصية الشكل ، مفردة أو فى تجمعات خيطية متموجة الشكل ، قد تكون موازية للغشاء البلازمى ، وتقع على سطح الحيز البريبلازمى ، أو قد تمتد الى وسط الخلية .

وعموما ، فإن توزيع الثيلاكويدات بخلية السيانوبكتريا ، يتوقف على النوع ، ومرحلة النمو والظروف الفسيولوجية للخلية [شكل ١٥ (٢) - ٢] ، علما بأنه فى خلايا حقيقية النــواة ، فــإن الثيلاكويدات توجد فى الكلوروبلاست .



شكل ١٥ (٢) - ٢ : قطاع فى خلية خضرية لسيانوبكتريا *Anabaena azollae*

لاحظ أن أغلب الثيلاكويدات تقع حول محيط الخلية ، وإن كان بعضها يمتد فى شكل خيوط متموجة بالجزء الأوسط من الخلية

تتركب الثيلاكويدات من وحدات ، ووحدة الثيلاكويد عبارة عن غشائين متصلى الأطراف يكونا كيس Sac ، ويضم الكيس الصبغات الضوئية * ، وهى حبيبات قرصية الشكل ، يتراوح قطرها مابين ١٠٠ الى ٢٠٠ A° متصلة بالأسطح الغشائية للكيس ، ويوجد بأغشية الثيلاكويدات ، النظام الناقل للألكترونات (الفرودوكسين ، البلاستوسيانين ، سيتوكروم f) ، كما يوجد بالثيلاكويدات حبيبات صغيرة متناثرة عبارة عن كريات من الليبيدات Lipid globules . ويتم بكيس الثيلاكويد تفاعلات التمثيل الضوئى .

ويلاحظ أن النوع *Gloeobacter violaceus* لايحتوى على ثيلاكويدات أو على أجسام فايكوبيلين ، إذ يقع كلوروفيل أ فى غشائه البلازمى ، وتقع الفايكوبيلينات بالسطح الداخلى للغشاء البلازمى .

٢- المحتويات الخلوية : Cellular inclusions

تحتوى أنواع عديدة من خلايا السيانوبكتريا ، على سكريات مخزنة كحبيبات بالسيتوبلازم فى صورة جليكوجين [شكل ١٥ (٢) - ١ أ و ب Gl) ، كما يوجد حبيبات صغيرة متناثرة بالثيلاكويدات ، عبارة عن كريات لبيدات . غير أن أنواعا قليلة من السيانوبكتريا ، هى القادرة على تخزين مادة Poly Beta hydroxybutyrate .

وتحتوى الخلايا أيضا على حبيبات مخزنة عديدة الفوسفات Polyphosphates (Pb) [شكل ١٥ (٢) -١ ب Pb] مشابهة للفوليوتين الموجود بخلايا البكتريا ، وتتكون تلك الحبيبات من الرنا وبروتينات متحدة مع عديدات الفوسفات .

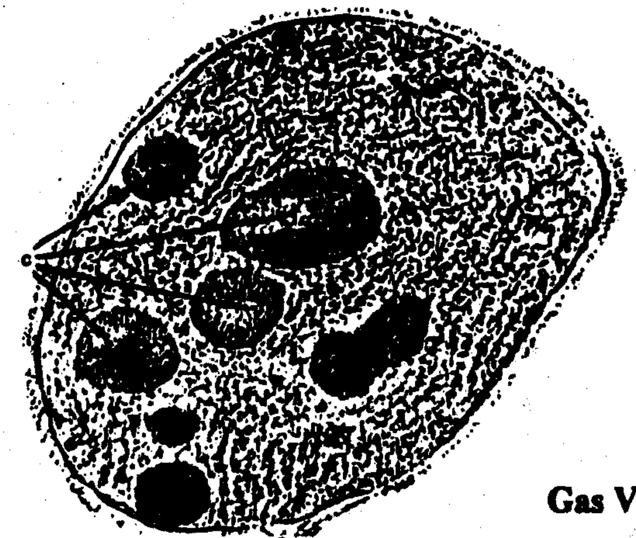
٣- حبيبات السيانوفايسين : Cyanophycin granules

هذه الحبيبات [شكل ١٥ (٢) - ١ ب Sg] توجد بخلايا السيانوبكتريا فقط ، وهى عبارة عن مواد غذائية نتروجينية مخزنة ، تستهلكها الخلية عندما تحتاج اليها وقت الحاجة ، وهى مواد عديدة الببتيدات ، تتركب أساسا من أحماض الأسبارتيك والأرجنين .

حبيبات السيانوفايسين قد تكون كروية الشكل أو خيطية أو فى تجمعات بالسيتوبلازم الخلوى [شكل ١٥ (٢)-٣] ، وتوجد فى الخلايا الخضرية ، كما توجد فى خلايا الهتيروسست وجراثيم الأكينيت .

---

* أنظر التمثيل الضوئى بالسيانوبكتريا ، والصبغات الضوئية بالثيلاكويدات ، الباب السادس عشر ، أولا ، ص ١٠٩٩ ومايليها .



شكل ١٥ (٢)-٣ : صورة بالمجهر الإلكترونى لقطاع فى سيانوبكتريا وحيدة الخلية × ٢٥,٠٠٠

يظهر بالخلية حبيبات السيانوفايسين (C)

٤- الفجوات الغازية : Gas Vacuoles

تحتوى أنواع عديدة من السيانوبكتريا التى توجد بالمياه ، مثل تلك التابعة لأجناس *Anabaena, Microcystis, Nostoc, Oscillatoria*، على فجوات غازية [شكل ١٥ (٢) ١ أ و ب G] متراصة بجوار بعضها كأسنان المشط Comb-like ، تتضغط سريعا عندما تتعرض لضغط .

والفجوة الغازية اسطوانية الشكل ، قطرها حوالى ٧٠ نانومتر ، أما طولها فيختلف باختلاف النوع ، وهى مجوفة ، ويحيط بها غلاف بروتينى مكون من أحماض أمينية غير كبريتية مثل Alanine, Glutamic, Isoleucine, Leucine, Serine, Valine .

أغشية الفجوة منفذة للغازات الموجودة بالوسط ، مثل غازات O_2, H_2, N_2, CO_2, CH_4 ، ولكنها غير منفذة للماء .

تنظم الفجوات الغازية عملية طفو الخلايا Buoyancy regulation* بالوسط المائى ، كما أنها تساعد فى حماية الخلايا من تأثير الضوء الشديد الذى قد تتعرض له الخلايا ، بكسرها للأشعة Refraction ، أو ببعثرتها للأشعة Scattering ، أو بالتداخل الضوئى Interference .

٥- الأنيبيات الدقيقة والخيوط الدقيقة : Microtubules and Microfilaments

لوحظ أن سيتوبلازم بعض خلايا السيانوبكتريا مثل أنواع تابعة لجنس *Anabaena* ، يحتوى على انيبيبات تنتظم فى صفوف ، وهذه الأنيبيات ذات قطر حوالى ١٠-١٢ نانومتر ، وطولها حوالى ٥٠ نانومتر .

كما وجد بهذه الخلايا أيضا خيوطا دقيقة توجد فى مجاميع ، قطر الخيط حوالى ٢-٨ نانومتر وبأطوال مختلفة . ومن المحتمل أن تؤدى تلك التراكيب الدقيقة أدورا فى عمليات الإنقسام الخلوى .

٦- الكربوكسيسومات : Carboxysomes

عبارة عن جسيمات دقيقة متعددة السطوح ، توجد بمركز خلايا السيانوبكتريا ، وتحتوى تلك الجسيمات على إنزيم Ribulose diphosphate carboxylase ، الخاص بتثبيت ثانى أكسيد الكربون الجوى (شكل ١٥ (٢) - ١) .

---

* Buoyancy : قابلة للطفو

قدرة السائل على إبقاء الأجسام طافية (عائمة) به .

٧- الرايبوسومات : Ribosomes

الرايبوسومات [شكل ١٥ (٢)-١ أ و ب R] هى مواقع تخليق البروتينات بالخليـــة . وخلايا السيانوبكتريا ، مثل خلايا البكتريا ، تحتوى على عدد كبير من الرايبوســـومات ، التـــى توجد حرة فى سيتوبلازم الخلية ، وأحيانا قد تتجمع عدة رايبوسومات (١٥ وحدة على الأقل) مع بعضها ، لتكون جسيما عديد الرايبوسومات Polyribosomes .

يتركب الرايبوسوم من رنا RNA وبروتين ، وهو فى خلايا السيانوبكتريا والبكتريـــا ، يكون من نوع 70S ، وبمقارنة رايبوسومات خلايا حقيقيات النواة ، برايبوسومات خلايا بدائيات النواة [*] ، نجد أن رايبوسومات حقيقيات النواة أكبر حجما ، وأنها من نوع 80S ، وتوجد مرتبطة بالشبكة الإندوبلازمية للخلية .

٨- البلازم النووى : Nucleoplasm

تتكون المادة النووية بخلايا السيانوبكتريا ، مثلها مثل البكتريا ، من جزىء أحادى مـــن حامض الدنا DNA طويل دائرى مزدوج الخيوط ، بدون غلاف ، والدنا والبلازميدات يمثـــلان الجينوم الكلى بالخلية (أنظر ص ١١٠٩) .

ويبلغ حجم جينوم خلية السيانوبكتريا ١,٥ × ١٠^{٩} دالتون ، والنسبة المئويـــة لقواعـــد جوانين سيتوزين GC ، تتراوح بين ٣٧ الى ٧٠% ، وهى تشابه فى ذلك خلايا البروكاريوتا .

والبلازم النووى بالسيانوبكتريا ، ككل بدائيات النواة ، غير محدد الموقع تماما بالخليـة، لأنه غير محاط بغلاف نووى ، وغير محدد به نوية ، ولاتقوم خلايـــا الســـيانوبكتريا بعمليـــات إنقسام ميتوزى حقيقى .

تركيبات خلوية خاصة بالسيانوبكتريا

تتميز السيانوبكتريا بقدرتها على تكوين عدد من التركيبات الخلوية المتخصصة ، التـــى لايوجد لها مثيل فى الكائنات الأخرى .

من هذه التركيبات

١- **الهرموجونيا Hormogonia** ، وهى خلايا خاصة تقوم بعملية التكـــاثر الخضـــرى لخيـــط السيانوبكتريا [**] .

٢- **جراثيم الأكينيت (الجراثيم الساكنة) Akinetes** ، وهى جراثيم مقاومة للجفاف ، تظل ساكنة إلى أن تتحسن ظروف الوسط فتنمو ، لتكون خيطا جديدا من السيانوبكتريا [**] .

٣- **خلايا الهتيروسست (الحويصلات المغايرة) Heterocysts**

خلايا ذات شكل وتركيب مميز بخيط السيانوبكتريا ، تحتوى على انزيم النيتروجينيز ، وتتـــم بها عملية تثبيت النتروجين الجوى هوائيا .

---

[*] أنظر جدول [٢-٣] بالباب الثان ، ص ٢٥ .

[**] أنظر تكاثر السيانوبكتريا ، ص ١٠٩٣ ومايليها .

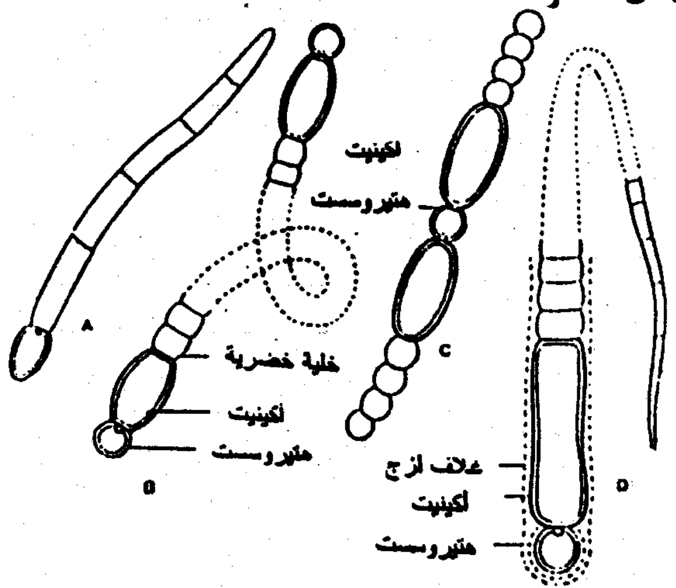
الهتيروسست (الحويصلة المغايرة) : Heterocyst

هى عبارة عن خلايا خضرية متحورة ، مستديرة أو بيضاوية ، ذات تركيب مميز ، وصفات فسيولوجية خاصة ، توجد فى خلايا السيانوبكتريا الخيطية التابعة لرتب Nostocales and Stigonematales ، (عدا الرتبة الخيطية Oscillatoriales) ، وخلايا الهتيروسست عادة أكبر وأوضح من باقى خلايا الخيط الخضرية ، وهى ذات قدرة ضعيفة على الصبغ ، ومقاومة لتأثير إنزيم اللايسوزيم .

موقع الهتيروسست بخيط السيانوبكتريا : Position on the filament

يختلف موقع الهتيروسست بخيط السيانوبكتريا حسب النوع [شكل ١٥ (٢)- ٤] .

- فقد تقع خلايا الهتيروسست بين خليتين خضريتين ، Intercalary heterocyst على مسافات بخلايا الخيط ، ويكون لخلية الهتيروسست درنتين Nodules ، أى درنة من كل جانب تصلها بخلية الخيط الخضرية المجاورة ، وذلك كما فى أجناس *Anabaena, Nostoc, Scytonema* .
- أو تقع خلايا الهتيروسست فى طرف خيط السيانوبكتريا ، وتسمى هتيروسست طرفية Terminal heterocyst ، ويكون لخلية الهتيروسست درنة واحدة تصلها بخلية الخيط المجاورة ، وذلك كما فى جنس *Anabaenopsis* .
- أو توجد خلايا الهتيروسست فى مواقع خاصة بخيط السيانوبكتريا ، حيث توجد
  - فى قاعدة الخيط ، وتسمى هتيروسست قاعدية Basal heterocyst ، كما فى خلايا جنس *Gloeotrichia* .
  - أو توجد على قمة فرع جانبى للخيط ، وتسمى هتيروسست جالسة Sessile heterocyst ، كما فى خلايا جنس *Nostochopsis* .

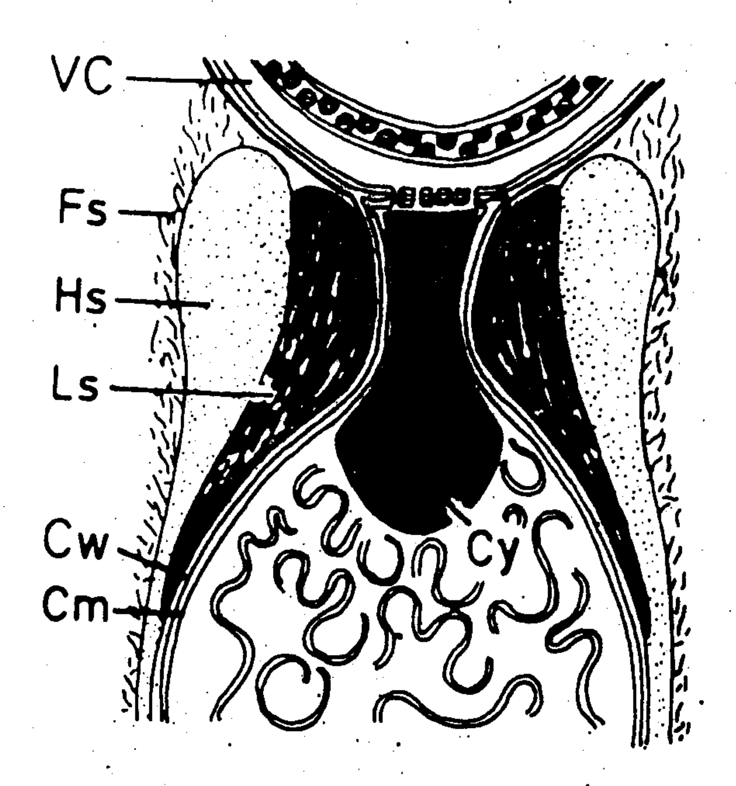


شكل ١٥ (٢)- ٤ : بعض أشكال ومواقع لخلايا الهتيروسست

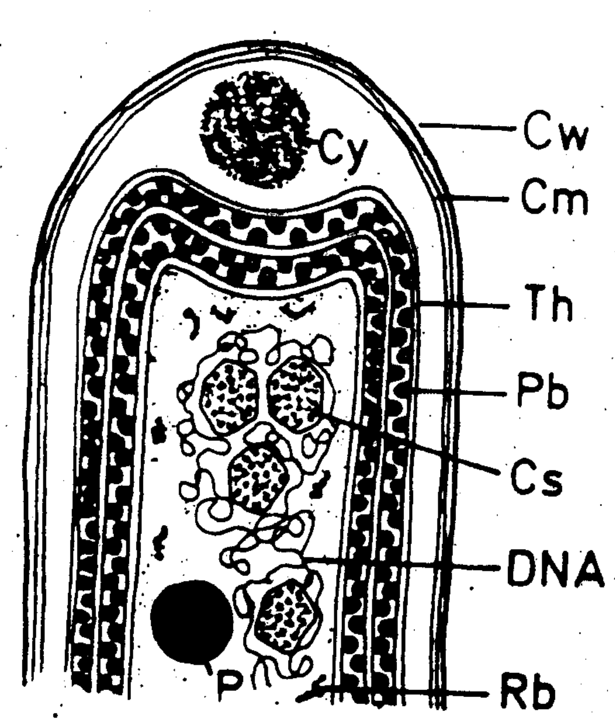
A : Anabaenopsis : خلية الهتيروسست بيضاوية ، طرفية
B : Cylindrospermum : خلية الهتيروسست مستديرة طرفية
C : Anabaena : خلية الهتيروسست مستديرة وعلى مسافات
D : Gloeotrichia : خلية الهتيروسست مستديرة قاعدية

تركيب الهتيروسست : Structure

تتركب خلية الهتيروسست [شكلى ١٥ (٢) - ٥ و ٦] من مادة متجانسة ، وهـــى ذات جدار خلوى سميك مقارنة بالخلايا الخضرية ، ويحيط بجدار خليـــة الهتيروســـت ، طبقــات مندمجة من سكريات معقدة ، ويوجد بينها وبين الخلايا المجاورة لها ، منافذ Pore channels ، تسمح بمرور النتروجين الجوى المثبت من الهتيروسست الى الخلايا المجاورة ، وبمرور نواتــج التمثيل الكربوهيدراتى من الخلايا الخضريـــة المجــاورة ، الــى الهتيروســـت كمــا يُكـوِّن بروتوبلاست ، الهتيروسست ، راوابط بلازمية Plasmodesmata ، هى خيوط سيتوبلازمية تنفذ من جدر الخلية ، وتشكل جسورا تربط الهتيروسست بالخلية الخضرية المجاورة .



ب



أ

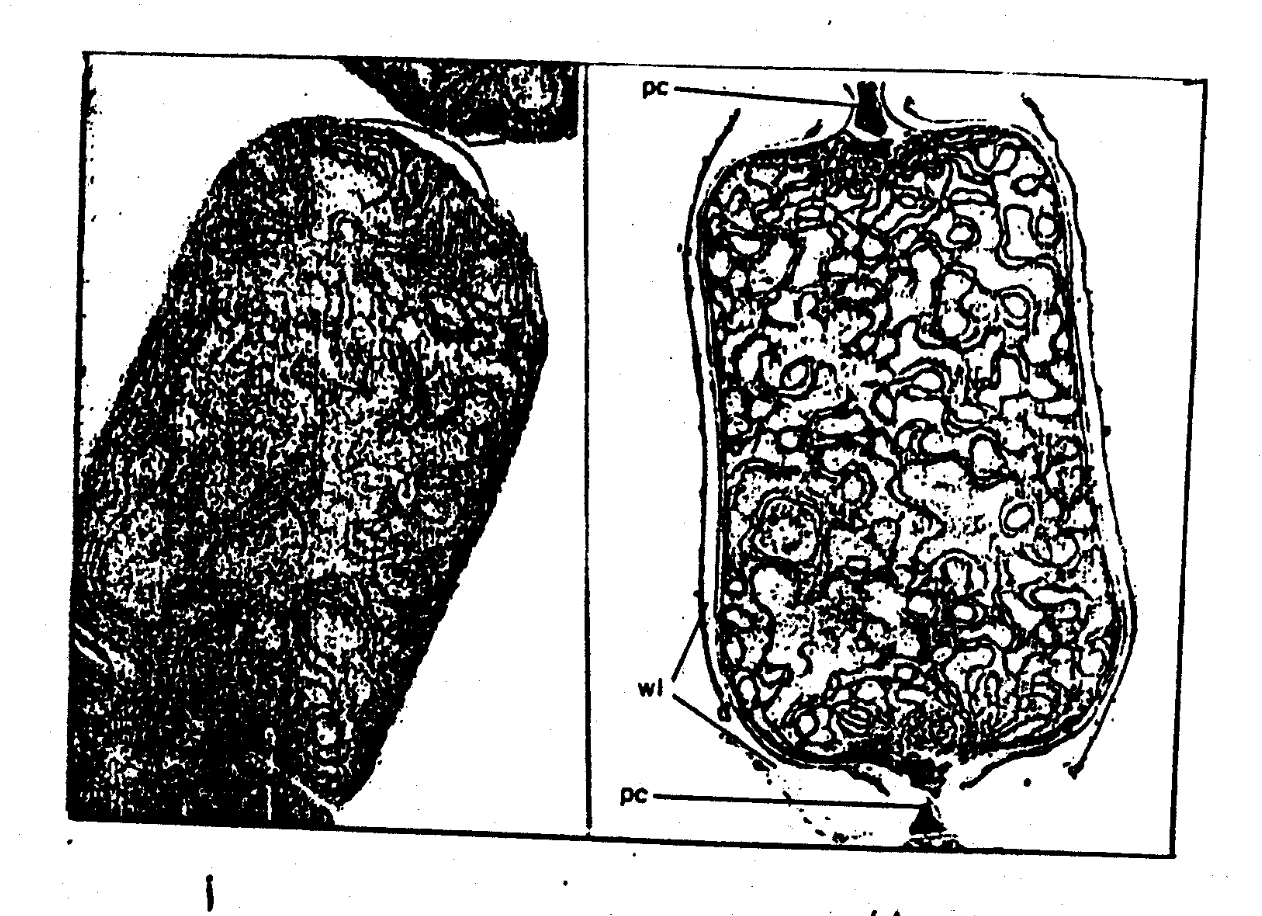
شكل ١٥ (٢) - ٥ : قطاع طولى بخلية سيانوبكتريا

أ - خلية خضريـــــــــة

Cw : جدار خلوى
Cy : جسيمات سيانوفايسين
Cm : غشاء سيتوبلازمى
Th : ثيلاكويد
Pb : جسيمات فايكوبيلين
Cs : كربوكسيسوم
DNA : خامض نووى الد نا
Rb : رايبوسوم
P : حبيبة عديدة الفوسفات

ب - خلية الهتيروسست

Vc : خلية خضرية
Fs : طبقة ليفية
Hs : طبقة متجانسة
Ls : طبقة صفائحية



شكل ١٥ (٢) - ٦ : صورة بالمجهر الالكترونى لقطاع رقيق فى خلية *Anabaena cylindrica* يوضـــح الفروق الهامة بين الخلية الخضرية ، وخلية الهتيروسســـت بخيـــط الســـيانوبكتريا (× ١٧,٠٠٠)

أ - خلية خضرية

ب - خلية هتيروسست

لاحظ

- طبقات الجدار العديدة (Wall layers , Wl) التى تحيط بالهتيروسست
- الروابط التى فى قطب الخليـــة Polar connections, Pc ، التـــى تربـــط الخلايـــا الخضريـــة بالهتيروسست بخيط السيانوبكتريا

Wl : طبقات جدارية Wall layers

Pc : روابط قطبية Polar connections

وتحتوى الهتيروسست على ثيلاكويدات ممثلة للضوء ، وبها حبيبات قطبية من السيانوفايسين .

ومقارنة بالخلايا الخضرية ، فإن الهتيروسست تحتوى على نسبة عالية من الرنا RNA ، ونسبة قليلة من حبيبات الجليكوجين وعديدات الفوسفات ، ولاتحتوى على كربوكسيسوم أو فجوات غازية . كما تحتوى الهتيروسست على الإنزيمات الخاصة بتثبيت نتروجين الهواء الجوى (النتروجينيز) Nitrogenase ، وانزيمات تخليق السيانوفايسين Cyanophycinase ، وإنزيمات دورة بنتوز الفوسفات التأكسدية Oxidative pentose phosphate cycle .

ومن حيث محتوى الهتيروسست من الصبغات الضوئية ، فإنها تحتوى على صبغات النظام الضوئى رقم ١ ، الذى يقوم بعملية الفسفرة الحلقية ، ويولد ATP اللازم لعملية تثبيت النتروجين الجوى .

ولاتحتوى الهتيروسست على صبغات النظام الضوئى رقم ٢ ، ولا على إنزيم Ribulose diphosphate carboxylase ، وعلى ذلك فإن الهتيروسست لاتستطيع القيام بعملية تثبيت CO_2 الجو ، ولايتم بها دورة كالفن ، ولاتنتج أكسجيناً أثناء تمثيلها الضوئى ، مما يوفر وسطاً مناسباً لنشاط إنزيم النتروجينيز ، وذلك بعكس الخلايا الخضرية المجاورة ، التى تحيط بالهتيروسست .

وظائف الهتيروسست : Function of heterocyst

الوظيفة الأساسية لخلايا الهتيروسست بخيط السيانوبكتريا ، هى تثبيت نتروجين الهواء الجوى تحت ظروف هوائية ، وتقوم خلايا الهتيروسست بإمداد الخلايا الخضرية المجاورة بخيط السيانوبكتريا ، بالنتروجين المثبت عن طريق منافذ Pore channels بين الخلايا ، وإضافة لذلك ، فقد تلعب خلايا الهتيروسست دوراً آخراً فى التكاثر اللاجنسى للخلايا (أنظر ص ١٠٩٦) .

تحتوى خلايا الهتيروسست على إنزيم النتروجينيز اللازم لعملية تثبيت النتروجين ، وتوفر الهتيروسست الوسط الداخلى اللاهوائى المختزل ، اللازم لانزيم النتروجينيز ليقوم بعملية تثبيت النتروجين تحت الظروف الخارجية الهوائية ، وذلك بتوفير مجموعة من العوامل مجتمعة منها

- عدم إنتاج الهتيروسست للأكسجين ، أثناء قيامها بعملية التمثيل الضوئى ، لعدم إحتوائها على النظام الضوئى رقم ٢ .
- وجود نظم أيض غذائى مؤكسدة نشطة بخلية الهتيروسست ، تسحب الأكسجين من الوسط الخلوى باستمرار .
- وجود أغلفة شديدة الاندماج متعددة تحيط بخلية الهتيروسست ، تعمل على تقليل نفاذية أكسجين الهواء الجوى ، إلى داخل خلية الهتيروسست ، مع السماح بمرور غاز النتروجين وكميات محدودة من الأكسجين اللازم لعملية التنفس .

ونتيجة لعملية تثبيت نتروجين الهواء بواسطة الهتيروسست ، فإن N_2 يتحـول الـى NH_3 ، ثم تتحد الأمونيا مع حـامض الجلوتـاميك الموجـود بالخليـة ، ليتكـون جلوتـامين Glutamine ، الذى ينساب مـن الهتيروسسـت إلـى الخلايـا الخضريـة المجـاورة بخيـط السيانوبكتريا ، عن طريق المنافذ التى تربط مابين الهتيروسست وتلك الخلايـا (أنظـر تثبيـت نتروجين الهواء الجوى بواسطة السيانوبكتريا ، ص ١١٠٣ومايليها) .

ثالثا : تكاثر السيانوبكتريا
Reproduction of Cyanobacteria

تتكاثر خلايا السيانوبكتريا ، كالبكتريا ، بالإنقسام الثنائى غالبا ، وإلى جانب ذلك ، فإن السيانوبكتريا تتكاثر أيضا بطرق أخرى خضرية ، أو بطرق لاجنسية ، أو جنسية .

أولا : التكاثر الخضرى : Vegetative reproduction

يتم التكاثر الخضرى بخلايا السيانوبكتريا ، بالطرق التالية

١- الإنقسام الثنائى البسيط : Binary fission

تتكاثر خلايا السيانوبكتريا وحيدة الخلية ، عادة بواسطة الأنقسام الثنائى للخلية (راجع الانقسام الثنائى للبكتريا ، الباب السادس ، الفصل الأول ، ص ٢٩٨) ، وأثناء عملية الإنقسام يتكون حاجز يبدأ من السطح الخارجى للخلية ويمتد الى مركزها ، وبذلك تنقسم الخلية الى جزئين متساويين . وفى نفس الوقت ، تنقسم المادة النووية للخلية الأم ، دون أن يمر الانقسام النووى بمراحل محددة (كما فى حالة الانقسام الميتوزى مثلا) ، أو يتكون مغزل .

تنفصل الخلايا البنوية الجديدة الناتجة من الانقسام الثنائى ، وتصبح كل منهما خلية مستقلة ، تتطور لتكون كائنا جديدا يعاود دورة حياته .

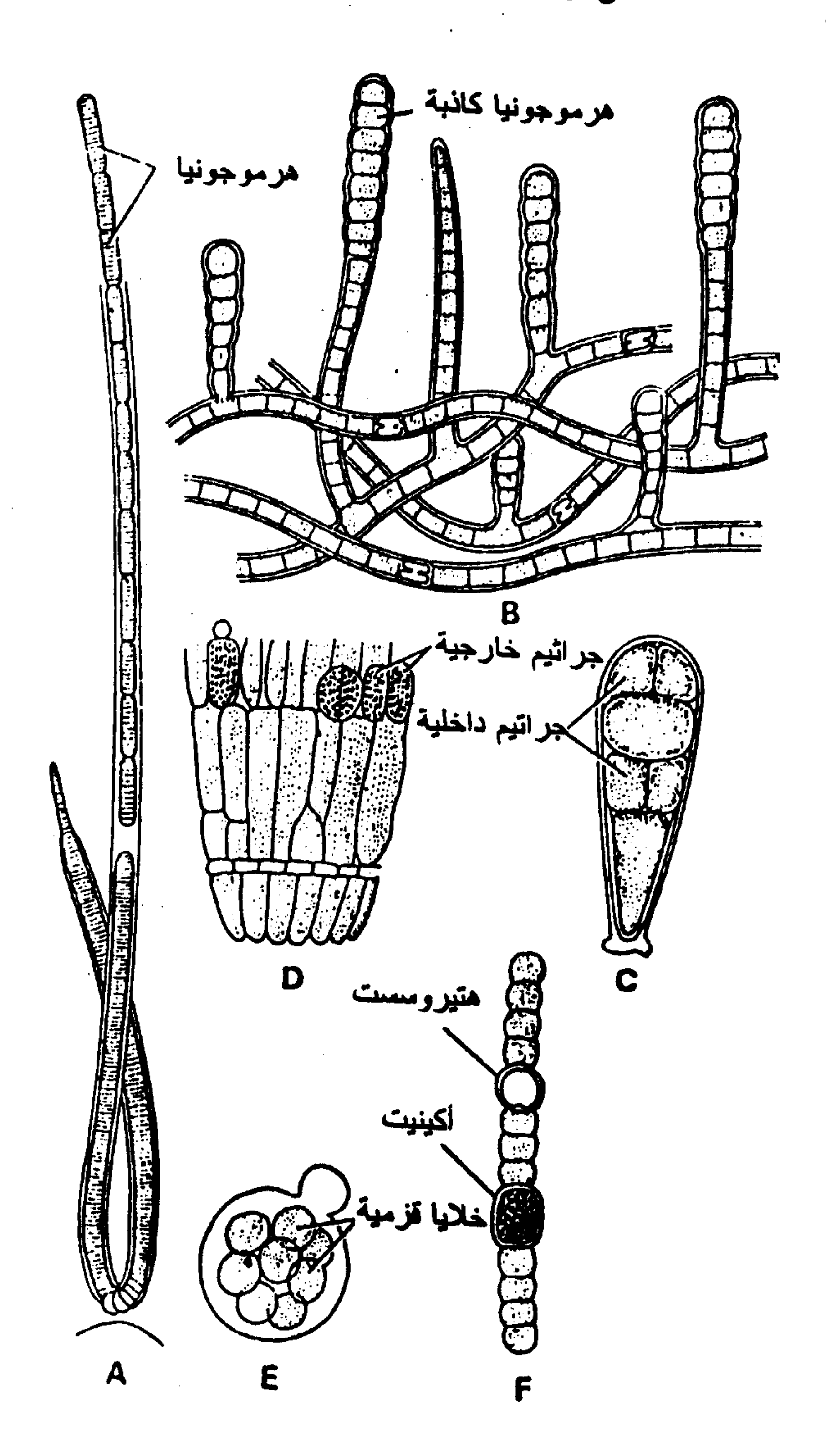
٢- التجزئة : Fragmentation

تتكاثر خلايا السيانوبكتريا غير الخيطية التى تكون مستعمراتا ، مثل التابعة لجنس *Microcystis* ، بتجزؤ المستعمرة الى أجزاء صغيرة ، ثم يتكاثر كل جزء من هذه الأجزاء الناتجة لتكون مستعمرة جديدة ، تنمو لتصل فى النهاية الى حجم المستعمرة الكامل . ويحدث التكاثر بالتجزئة أيضا ، فى بعض الأنواع الخيطية ، التى يتجزأ فيها الخيط ويتكاثر ليكون خيطا جديدا.

٣- الهرموجونيا : Hormogonia (Sing. Hormognium)

الهرموجونيا [شكل ١٥ (٣-١)] ، خلايا صغيرة ذات غلاف هلامى رقيق ، توجد بخيط الكائن ، كما فى الأنواع التابعة لرتب Nostocales and Stigonematales . وتقع الهرموجونيا فى مواقع مختلفة بخيط الكائن ، وذلك حسب النوع ، فقد تقع بطرف خيط السيانوبكتريا كما فى جنس *Scytonema* ، أو على تفرعات خاصة بالخيط ، كما فى جنس *Stigonema* ، أو توجد بأماكن غير منتظمة على طول الخيط ، كما فى أجناس *Lyngbya, Nostoc* and *Oscillatoria* .

تعمل الهرموجونيا كعضو تكاثر لاجنسى ، فعندما تنفصل الهرموجونيا من خيط الكائن ، فإنها تتكاثر لتكون خيطا جديدا .



شكل ١٥ (٣) - ١ : نماذج من طرق التكاثر الخضرى واللاجنسى فى خلايا السيانوبكتريا

A - هرموجونيا Hormogonia فى *Calothrix confericola*

B - هرموجونيا كاذبة Pseudohormogonia فى *Westiella intricata*

C - جراثيم داخلية Endospores فى *Dermocarpa clavata*

D - جراثيم خارجية Exospores فى *Chamaesiphon fuscus*

E - خلايا قزمية Nannocytes (Baeocytes) فى *Aphanotheca* sp.

F - أكينيت (جراثيم ساكنة) Akinete فى *Anabaena affinis*

٤- الهرموجونيا الكاذبة : Pseudohormogonia

خلايا مشابهة لخلايا الهرموجونيا ، [شكل ١٥ (٣)- ١] ، وهى محاطة بغلاف سميك ملون ، وتوجد بطرف خيط بعض الأنواع الخيطية من السيانوبكتريا مثل تلك التابعة لأجناس *Fischerella, Scytonema, Stigonema & Westiella* .

وعندما تتحرر خلايا الهرموجونيا من الخيط ، فانها تتكاثر وتكون خيطا جديدا .

ثانيا : التكاثر اللاجنسى : Asexual reproduction

يتم التكاثر اللاجنسى بخلايا السيانوبكتريا ، بتكوين تراكيب لاجنسية ، ومنها :

١- الجراثيم الداخلية (الخلايا القزمية – البايوسايت ، Baeocytes) : Endospores

[شكل ١٥ (٣) – ١]

يلاحظ أنه فى بعض أجناس السيانوبكتريا مثل *Dermocarpa, Gloeocapsa, Microcystis* ، تتكون جراثيم بداخل الخلية الخضرية الأم ، التى تعرف فى هذه الحالة بالحافظة الاسبورانجية ، اسبورانجيوم Sporangium .

وتسمى الجراثيم المتكونة بالجراثيم الداخلية Endospores ، وقد تسمى بالبايوسايت أو بالخلايا القزمية أو بالجراثيم القزمية Baeocytes, Baeospores ، أوبالجراثيم الدقيقة Nanospores ، Nannospores .

تتكون الجراثيم الداخلية بالخلية الأم ، نتيجة لعمليات انقسام متعدد Multiple fission سريع لمحتويات الخلية ومادتها النووية ، حيث تزداد الخلية الخضرية فى الحجم ، وتحاط بطبقة سميكة من عديدات التسكر ، وينقسم بروتوبلاست الخلية عدة إنقسامات متعددة سريعة ، ليتكون بداخلها عدد من الخلايا الصغيرة الحجم ، الكروية الشكل ، تعرف بالجراثيم الداخلية ، والتى قد يصل عددها فى بعض أنواع السيانوبكتريا ، الى عدة مئات .

وعندما تتحرر الجراثيم الداخلية من الأسبورانجيوم ، بحدوث كسر فى الجدار الخلوى للأسبورانجيوم ، فان الجراثيم المتحررة تنمو فى مكانها وبدون فترة راحة ، لتكون كائنا جديدا .

٢- الجراثيم الخارجية : Exospores [شكل ١٥ (٣) – ١] .

تتكون هذه الجراثيم خارج الخلية الخضرية الأم ، بالتبرعم ، فى أطراف الخلية [شكل ١٥ (٣) – ١] ، وتوجد هذه الجراثيم الخارجية فى بعض أجناس السيانوبكتريا ، مثل *Chamaesiphon* and *Stichosiphon* ، والجرثومة الخارجية تكون محاطة بغشاء رقيق ، وعند انفصالها من الخلية الأم ، فإنها تنبت وتكون كائنا جديدا .

٣- جراثيم الأكينيت (الجراثيم الساكنة) : Akinetes [شكل ١٥ (٣) – ١]

توجد جراثيم الأكينيت [شكل ١٥ (٣) – ١] فى كثير من أنواع السيانوبكتريا الخيطية ، كما فى أجناس *Anabaenopsis, Gloeotrichia, Nostoc, Scytonema, Stigonema* ، وفى أنواع هذه الأجناس ، فإن بعض الخلايا الخضرية التى بالخيط ، تقوم بتخزين المواد الغذائية بداخلها ، وتزداد الخلية فى الحجم ، ويصبح لونها غامقا ، وتكون جدارا سميكا ، وبذلك تتحول إلى جرثومة ساكنة تسمى أكينيت .

توجد جراثيم الأكينيت ، ببعض أنواع السيانوبكتريا المكونة للهتيروسست ، حيث تقع بين خلايا الخيط جوار الهتيروسست كما فى *Anabaena* ، أو فى طرف الخيط ، كما فى *Cylindrospermum* [شكل ١٥(٢) - ٤ ، ص ١٠٨٨] ، أو قد توجد كسلسلة من عدة خلايا متجاورة .

خلايا الأكينيت مقاومة للجفاف ، وعندما تنفصل عن الخيط ، فإنها تظل ساكنة ، حتى تتحسن ظروف الوسط ، فتنمو وتكون كائنا جديدا .

٤- الهتيروسست (الحويصلة المغايرة) : **Heterocyst**

تقوم الهتيروسست بعملية التكاثر اللاجنسى فى بعض الأحيان ، وقد لوحظ ذلك فى بعض أنواع السيانوبكتريا مثل *Calothrix weberi, Nostoc commune, Tolypothrix elenkii*

وتبدأ عملية التكاثر بانقسام محتويات خلية الهتيروسست الى خليتين ثم الى أربعة ، وتتآكل الجدر الخلوية للهتيروسست ، وتخرج الخلايا الجديدة ، وتنمو لتكون خيطا جديدا للسيانوبكتريا .

ثالثا : التكاثر الجنسى : **Sexual reproduction**

التكاثر الأساسى فى السيانوبكتريا ، كما ذكر سابقا ، هو التكاثر الخضرى واللاجنسى، ومع ذلك فقد لاحظ (Kumar and Kumar, 1998) ، وجود حالات تجمع جينى Recombination ، تحدث بين خلايا السيانوبكتريا نتيجة التزاوج Conjugation ، أو التحول الوراثى Transformation ، أو الاستقطاع Transduction ، كما يحدث فى خلايا *Anacystis nidulans, Cylindrospermum majus* .

ونتيجة لحدوث التجمع الوراثى ، تتكون خلايا جديدة ، تجمع بين صفات كل من الخلايا المانحة والخلايا المستقبلة ، مثل صفات مقاومة الخلية لأنواع متعددة من المضادات الحيوية (أنظر التجمع الجينى ، ص ١١٠٩ وماپليها) .

﴿الباب السادس عشر﴾

النشاط الحيوى والجينى للسيانوبكتريا

المحتويـــات

﴿الباب السادس عشر﴾

النشاط الحيوى والجينى للسيانوبكتريا
Biological and Genetical Activity of Cyanobacteria

أولاً : التمثيل الضوئى بالسيانوبكتريا
Cyanobacterial Photosynthesis

جهاز التمثيل الضوئى

جهاز التمثيل الضوئى بخلية السيانوبكتريا ، كما ذكر سابقاً ، هو الثيلاكويد[1] ، فهى تضم الصبغات الضوئية ، وتوجد بأغشيتها النظام الناقل للالكترونات (فرودوكسين Ferrodoxin ، بلاستوسيانين Plastocyanin ، سيتوكروم f) ، وبها تتم عملية التمثيل الضوئى ، أما الانزيمات الخاصة بتفاعلات الظلام فإنها توجد فى سيتوبلازم الخلية .

الصبغات الضوئية بالثيلاكويدات

يحتوى ثيلاكويد خلية السيانوبكتريا ، على كلوروفيل أ ، وبيتا كاروتين ، وكاروتينويدات مثل Echinenon, Myxoxanthophyll & Zeaxanthin .

وإضافة إلى ذلك ، فإن أهم مايميز ثيلاكويدات السيانوبكتريا والطحالب الحمراء أيضاً ، إحتوائها على أجسام الفايكوبيلين Phycobilisomes ، وهذه لاتوجد فى النباتات .

وأجسام الفايكوبيلينات تركيبات قرصية الشكل ، بروتينية التركيب ، متصلة بالسطح الخارجى لغشاء الثيلاكويد .

وتحتوى الفايكوبيلينات على

٧٥%	فايكوسيانين	Phycocyanin
١٢%	الوفايكوسيانين	Allophycocyanin
١٣%	فايكوإرثرين	Phycoerythrin

كما تحتوى الفايكوبيلينات على بعض عديدات الببتيدات غير الملونة .

الكلوروفيل عبارة عن مادة عضوية معقدة ، ينتمى بنائياً الى مجموعة الهيم ، المكونة للهيموجلوبين والسيتوكروم . ويوجد كلوروفيل أ فى جميع خلايا السيانوبكتريا ، وهو الصبغة الأساسية الممتصة للضوء فى تفاعلات التمثيل الضوئى بالسيانوبكتريا وبالنباتات[٢، ٣] .

---

(١) أنظر الثيلاكويدات ، ص ٨٣٤ وص ١٠٨٤ .

(٢) أنظر التمثيل الضوئى البكتيرى والنباتى وشكل [٧ (٢) - ٦٠] بالباب السابع ، الفصل الثانى ص ٤٩٨ ومايليها.

(٣) وأنظر التمثيل الضوئى البكتيرى ، بالباب العاشر ، الفصل السادس ، ص ٨٢٧ ومايليها .

الكاروتينويدات مركبات طويلة السلسلة ، من أهم أنواعها الكاروتين والزانثوفيل ، لونها أصفر أو أحمر ، وهى لاتلعب دوراً مباشراً فى عملية التمثيل الضوئى ، ولكنها تساهم فى ذلك بطريقة غير مباشرة ، وذلك بنقلها كمية من الطاقة الضوئية إلى الكلوروفيل ، وبذلك فإنها تعمل على زيادة الحيز المؤثر لعملية التمثيل الضوئى .

إضافة إلى ذلك ، فإن الكاروتينويدات تحمى جهاز التمثيل الضوئى والصبغات الضوئية بالخلية ، من تأثير ضوء الشمس الساطع ، بعملها كمنظم ، وذلك بتحويل الطاقة الضوئية الزائدة عن حاجة الخلية ، إلى حرارة وتشتتها ، وبذلك تحمى الكلوروفيل من تفاعلات الأكسدة الضوئية الضارة .

تقوم أجسام الفايكوبيلين بنقل الطاقة الضوئية ذات الطول الموجى من ٥٠٠ الى ٦٥٠ نانومتر الى النظام الضوئى رقم (٢) بالخلية ، بينما يمتص كلوروفيل أ الضوء الأحمر ذو الطول الموجى من ٦٨٠ الى ٦٨٣ نانومتر ، وينقله إلى النظام الضوئى رقم (١) بالخلية . أما صبغة الفايكوإرثرين الحمراء التى توجد بخلايا بعض أنواع السيانوبكتريا ، فإنها تمتص الموجات الضوئية ذات الطول الموجى من ٤٧٠ إلى ٦٠٠ نانومتر ، وتكسب الخلايا لوناً محمراً ، بدلاً من اللون الأزرق المخضر .

وتتأثر نسبة ماتحتويه خلايا السيانوبكتريا من الصبغات الزرقاء والصبغات الحمراء ، بنوع الضوء الذى تتعرض له الخلايا فى الوسط الموجود به* .

ففى الضوء الأخضر والأزرق ، يسود بخلايا السيانوبكتريا تخليق صبغات الفايكوإرثرين الحمراء ، بينما فى وجود الضوء الأحمر يسود تخليق صبغات الفايكوسيانين الزرقاء . وهذه المواءمة فى عمليات تكوين الصبغات الضوئية مع الضوء الذى تتعرض له خلايا السيانوبكتريا ، يوفر للخلايا الفرصة الكاملة للإستفادة من نوع الضوء الواقع عليها بالوسط الذى تعيش به ، كما يحدث مثلاً فى حالة وجود خلايا السيانوبكتريا تحت غطاء نباتى على سطح التربة ، أو فى ضوء أزرق بأعماق البحار .

التمثيل الضوئى بالسيانوبكتريا

تتشابه عملية التمثيل الضوئى فى كلاً من خلايا حقيقية النواة ، وخلايا السيانوبكتريا بدائية النواة ، فأغلب خلايا السيانوبكتريا تشبه النبات ، فى أنها ذاتية التغذية ممثلة للضوء Photolithotrophs ، لإحتواء خلاياها على النظام الضوئى رقم (٢) ، الذى يمكنها من استخدام H_2O كمانح للإلكترونات ، وذلك لتثبيت CO_2 الجو من خلال دورة كالفن (Calvin cycle, C-3 pathway) .

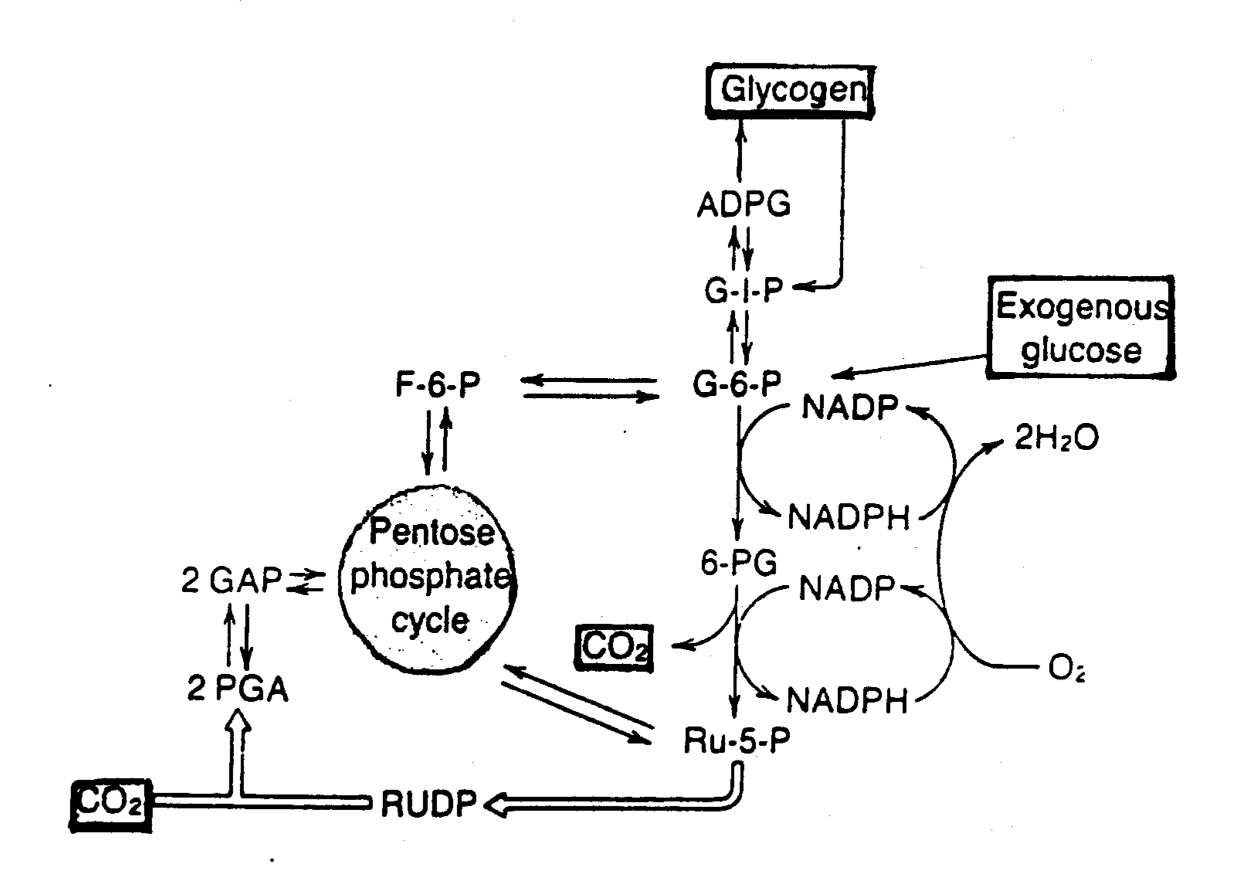
وشكل [١٦ (١)- ١] يوضح العلاقات المتبادلة بين دورات الأيض الأساسية فى السيانوبكتريا.

وتختلف السيانوبكتريا فى تمثيلها الضوئى عن خلايا البكتريا الأرجوانية والخضراء الممثلة للضوء ، فهذه لاهوائية ، غير منتجة للأكسجين ، ولاتحتوى خلاياها إلا على النظام الضوئى رقم (١) فقط ، وتأخذ الكتروناتها من H_2 , H_2S , S ، أو من مواد عضوية .

وجدول [١٦(١) -١] يوضح أهم الفروق بين نظم التمثيل الضوئى بالخلايا المختلفة .

---

* أنظر تلازم السيانوبكتريا مع الوسط ، ص ١٠٧١ .



شكل ١٦ (١) - ١ : شكل تخطيطى مبسط يوضح العلاقات المتبادلة بين دورات الأيض الأساسية الخاصة بتمثيل الكربون فى السيانوبكتريا

ADPG : ADP-glucose
G-1-P : Glucose-1-Phosphate
G-6-P : Glucose-6-Phosphate
6-PG : 6-Phosphogluconic acid
F-6-P : Fructose-6-phosphate

2-GAP : 2-Glyceraldehyde phosphate
2-PGA : 2-Phosphoglyceric acid
RuDP : Ribulose- 1,5-diphosphate
Ru-S-P : Ribulose-5-Phosphate

- تفاعلات دورة كالفن موضحة بأسهم مزدوجة
- تفاعلات الظلام موضحة بأسهم عادية
- مواد التفاعل والنواتج النهائية محاطة بمستطيل ، وهى
  جليكوجين Glycogen ، جلوكوز من مصدر خارجى Exogenous glucose ، CO_2

جدول ١٦ (١) - ١ : أهم خصائص نظم التمثيل الضوئى بالخلايا*

الخاصية	الأيوكاريوتا	السيانوبكتريا	البكتريا الخضراء والأرجوانية
صبغات التمثيل الضوئى	كلوروفيل أ	كلوروفيل أ	بكتريوكلوروفيل
النظام الضوئى رقم ٢	يوجد	يوجد	لايوجد
مانح الالكترونات	H_2O	H_2O	H_2, H_2S, S والمواد العضوية
انتاج الأكسجين	ينتج	ينتج	لا ينتج
الناتج الأول لتحــولات الطاقة	ATP + NADPH	ATP + NADPH	ATP
مصدر الكربون	CO_2	CO_2	CO_2 و/أو مادة عضوية

* وانظر جدول [٧ (٢) - ٣١] ص ٥٠٠ .

ورغم أن أغلب أنواع السيانوبكتريا ذاتى التغذية وممثل للضوء ، إلا أن سلالاتاً قليلة من السيانوبكتريا مثل *Anabaena variabilis* ، تعتبر إختيارية للتمثيل الضوئى Facultative phototrophs ، بمعنى أنها تكون قادرة على التمثيل الضوئى فى وجود الضوء ، وتكون أيضا عضوية التغذية ، ممثلة للمواد الكيميائية Chemo-organotrophs ، وقادرة على النمو فى وجود الظلام ، دون أن تقوم بعملية التمثيل الضوئى ، مع حصولها على الطاقة من إختزال السكريات مثل الجلوكوز والفركتوز .

ومثل هذه السلالات الإختيارية للتمثيل الضوئى ، تكون سرعة نموها فى الظلام أقل بكثير من سرعة نموها عندما تكون فى الضوء ، وذلك بسبب نقص كمية ATP الناتجة من الفسفرة التأكسدية فى الظلام ، عن تلك الناتجة من الفسفرة الضوئية فى حالة التمثيل الضوئى .

إضافة إلى ذلك ، فإن أنواعاً من السيانوبكتريا ، خاصة تلك التى تعيش فى مياه تحتوى على تركيزات محسوسة من H_2S (حوالى ٥ ملليمول /لتر) ، تقوم باستخدام H_2S ، بدلاً من H_2O ، كمانح للالكترونات ، وذلك كما فى حالة النوع *Oscillatoria limnetica* . فهذه السيانوبكتريا فى وجود H_2S ، فإن نظامها الضوئى رقم (٢) يكون غير نشط ، وتستخدم H_2S بدلا من H_2O كمانح للإلكترونات ، وتقوم بعملية التمثيل الضوئى تحت ظروف لاهوائية ، بطريقة مشابهة لما تقوم به البكتريا الكبريتية الخضراء والأرجوانية ، وتجرى التفاعل التالى

$$CO_2 + 2H_2S \longrightarrow HCHO + H_2O + 2S$$

وذلك بدلاً من التفاعل التالى

$$CO_2 + 2H_2O \longrightarrow HCHO + H_2O + 2O$$

ثانياً : تثبيت نتروجين الهواء الجوى* بواسطة السيانوبكتريا
Molecular Nitrogen Fixation by Cyanobacteria

أنواع السيانوبكتريا المثبتة للنتروجين

معظم أنواع السيانوبكتريا قادرة على تثبيت نتروجين الهواء الجوى تحت ظروف هوائية ، وإن كانت القدرة على التثبيت تختلف من نوع لآخر . وتتم عملية التثبيت بواسطة السيانوبكتريا وحيدة الخلية ، وكذلك بواسطة الأنواع الخيطية المكونة للهتيروسست وغير المكونة للهتيروسست [جدول ١٦ (٢)- ١] . ومن السيانوبكتريا مايقوم بعملية التثبيت وهو فى الحالة الحرة ، ومنها مايثبت النتروجين وهو فى حالة تكافل مع شريك آخر .

وبسبب قدرة السيانوبكتريا على تثبيت نتروجين الهواء الجوى ، فإنها تلعب دوراً هاماً فى الوسط البيئى الموجودة به ، ومايزيد من أهمية السيانوبكتريا فى عملية تثبيت النتروجين ، أنها ذات احتياجات غذائية بسيطة ، فهى قادرة على النمو فى بيئة معدنية ، وعلى استخدام الضوء كمصدر للطاقة ، واستخدام غاز CO_2 الجو كمصدر للكربون و N_2 الهواء الجوى كمصدر للنتروجين .

وهذه الاحتياجات البسيطة ، تسهل عملية تنمية السيانوبكتريا وإنتاجها بشكل إقتصادى ، واستخدامها كلقاح حيوى لتسميد بعض المحاصيل كالأرز ، وهى فى تثبيتها للنتروجين بالأراضى ، فإنها لاتتنافس مع غيرها من كائنات التربة خليطة التغذية ، فى مصادر الكربون والطاقة .

إنزيم النتروجينيز : Nitrogenase

يقوم إنزيم النيتروجينيز ، الموجود بخلايا السيانوبكتريا ، بتثبيت النتروجين الجوى ، بالخلية ، وذلك أساساً فى صورة NH_3 ، ويشفر لتكوين الانزيم جينات بنائية تقع بكروموسوم الخلية هى مجموعة جينات nif H, nif D and nif K .

وتتطلب عملية التثبيت بجانب الانزيم ، توفر مادة مختزلة Reductant ، كالإيدروجين والإلكترونات ، وأيضا توفر طاقة بكميات كبيرة ممثلة فى ATP ، وتأتى هذه الطاقة من التمثيل الضوئى .

يقوم الإنزيم بتنشيط النتروجين الجوى واختزاله فى خطوات ، حتى يتكون فى النهاية الأمونيا ، كناتج أساسى لعملية التثبيت ، حسب المعادلة العامة

$$N_2 \longrightarrow N \equiv N \xrightarrow[+n\ ATP]{Nitrogenase + 6H^+ + 6e^-} 2NH_3 + n\ ADP + P_i$$

---

* راجع تثبيت النتروجين الجوى ، بالباب العاشر ، الفصل السابع ، ص ٨٤٣ ومايليها .

جدول ١٦ (٢) – ١ : أجناس السيانوبكتريا المثبتة لنتروجين الهواء الجوى

وحيدة الخلية	خيطية تكون هتيروسست	خيطية لاتكون هتيروسست
Aphanotheca	*Anabaena*	LPP Group*
Chroococcidiopsis	*Anabaenopsis*	
Dermocarpa	*Aulosira*	*Lyngbya*
		Microcoleus
Gloeocapsa		
Gloeothece	*Calothrix*	*Oscillatoria*
		Plectonema
Myxosarcina	*Chlorogloea*	*Pseudoanabaena*
Pleurocapsa	*Chlorogloeopsis*	*Schizothrix*
		Spirulina
Synechococcus	*Cylindrospermum*	*Trichodesmium*
Xenococcus		
	Fischerella	
	Gloeotrichia	
	Hapalosiphon	
	Mastigocladus	
	Nodularia	
	Nostoc	
	Nostochopsis	
	Rivularia	
	Scytonema	
	Scytonematopsis	
	Stigonema	
	Tolypothrix	
	Westiella	
	Westiellopsis	
	Wollea	

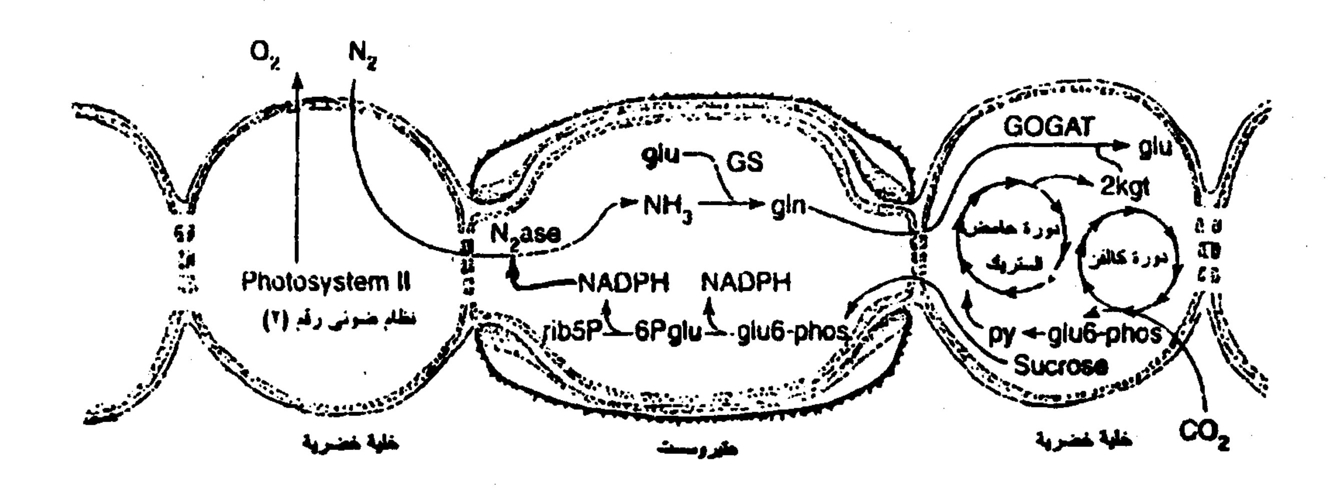
* LPP group

مجموعة من السيانوبكتريا تتبع رتبة *Oscillatoriales* ، وهى خيطية ذات تفرعات كاذبة ، لاتكون هتيروسست، وتتكاثر بالهرموجونيا

قد تنساب الأمونيا المثبتة بالخلية ، فى بعض الأحيان ، إلى خارج الخلية ، أو تتحول وهذا هو الأغلب إلى أحماض أمينية بداخل الخلية ، بإتحادها مع الأحماض العضوية الموجودة بالخلية ، لتشارك فى تكوين البروتوبلازم الخلوى .

وفى حالة الأمونيا المثبتة بالهتيروسست [شكل ١٦ (٢) - ١] ، فان الأمونيا تتحد مع الأحماض العضوية التى تنساب إليها من الخلايا الخضرية المجاورة ، مثل حامض الجلوتاريك (Glu) ، ويتكون جلوتامين glutamine (Gln) بواسطة إنزيم Glutamine synthetase ، ويتحرك الجلوتامين الى الخلايا الخضرية المجاورة عن طريق المنافذ Pore channels التى توجد بين هذه الخلايا والهتيروسست ، ليتحول الى Glutamate وأحماض أمينية أخرى بواسطة إنزيمات توجد بالخلايا الخضرية [شكل ١٦ (٢) - ٢] ، مثل Glutamine oxoglutarate amidotransferase (GOGAT) - (Glutamate synthase) وتساهم الأحماض الأمينية الناتجة ، فى تخليق البروتينات اللازمة للخلية .

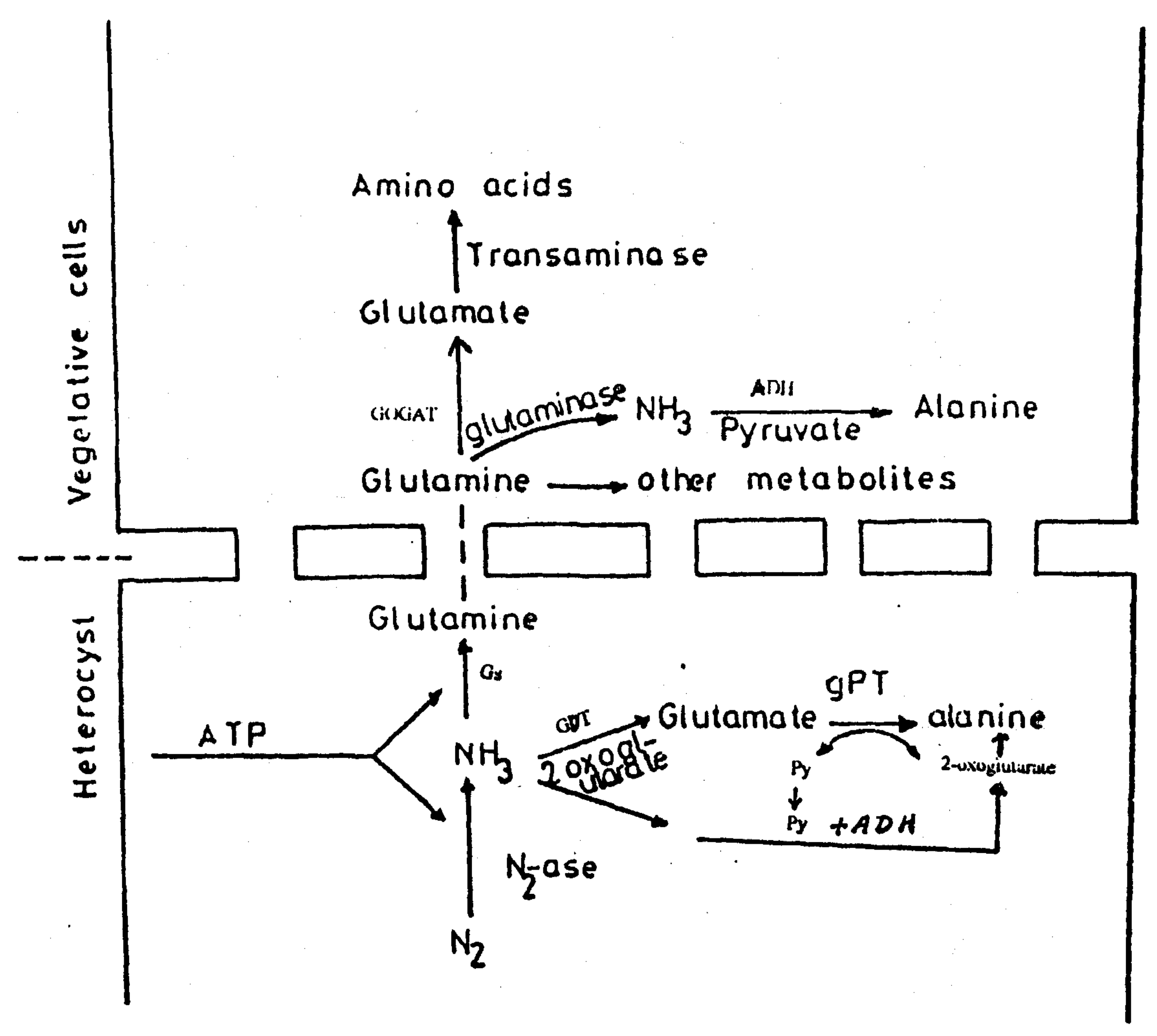
ويلاحظ ، أن أول مركب نتروجينى ثابت ، ينتج من عملية التثبيت هو الأمونيا NH_3 ، وأن أول مركب عضوى ينتج من تمثيل الأمونيا هو الجلوتامين . وفى أنواع بعض خلايا السيانوبكتريا قد يتكون الآلانين أو الأسبارتات Aspartate ، ويتم ذلك غالباً بواسطة تفاعلات نقل مجموعة الأمين Transamination من الجلوتامات Glutamate .



شكل ١٦ (٢) - ١ : رسم تخطيطى لأنتقال النتروجين والكربون مابين الهتيروسست والخلية الخضرية بخيط الـ *Anabaena* .

N₂ase : Nitrogenase
Glu : Glutarate
Gs : Glutamine synthetase
Gln : Glutamine
rib5P : Ribose-5-phosphate
6 Pglu : 6-phosphogluconate
Glu-6-phos : Glucose-6-phosphate
GOGAT : Glutamine oxoglutarate amidotransferase (glutamate synthase)
2Kgt : 2-ketoglutarate
Py : Pyruvate
Glu-6-phos : Glutamate-6-phosphate phogluconate

كما يوضح [شكل ١٦ (٢)-٢] علاقة انزيم النيتروجينيز ببعض الانزيمات الممثلة للأمونيا فى طحلب *Anabaena cylindrica* .



GOGAT: Glutamine oxoglutarate amidotransferase (glutamate synthase)
ADH : Alanine dehydrogenase
ATP : From photo and/or oxidative phosphorylation

Gs : Glutamine synthetase

GDH : Glutamic dehydrogenase
GPT: Glutamate pyruvate aminotransferase
Py : Pyruvate

شكل ١٦ (٢) – ٢ : علاقة إنزيم النيتروجينيز ببعض الانزيمات الممثلة للأمونيا فى طحلب *Anabaena cylindrica*

حساسية إنزيم النتروجينيز للأكسجين

إنزيم النتروجينيز حساس للأكسجين ، ويتلف فى وجوده ، لذلك فإن إنزيم النتروجينيز لايعمل إلا إذا توفر له الجو المختزل (pO_2 حوالى ٠,٠١ إلى ٠,٢ ضغط جوى) . وتوفر خلايا السيانوبكتريا الجو المختزل اللازم لنشاط إنزيم النتروجينيز بأكثر من طريقة ، وذلك حسب نوع السيانوبكتريا .

- فالأنواع وحيدة الخلية كالجلوكابسا ، يوجد بها الانزيم محاطا بأغشية تحميه من الأكسجين أثناء نشاطه
- والأنواع الخيطية المكونة للهتيروسست ، تتم عملية تثبيت النتروجين بها ، بداخل الهتيروسست ، لأنها هى الخلايا التى تحتوى على إنزيم النتروجينيز .

وتوفر الهتيروسست الحماية اللازمة من الأكسجين لانزيم النتروجينيز الموجود بها بمجموعة من العوامل ، أهمها عدم إنتاج الهتيروسست لأكسجين أثناء تمثيلها الضوئى ، لخلوها من النظام الضوئى رقم (٢) ، (أنظر وظائف الهتيروسست ، ص ١٠٩١) ، وبسبب هذه الحماية التى توفرها الهتيروسست لانزيم النتروجينيز من الأكسجين ، نجد أن كل أنواع السيانوبكتريا المكونة للهتيروسست ، قادرة على تثبيت نتروجين الهواء الجوى تحت الظروف الهوائية .

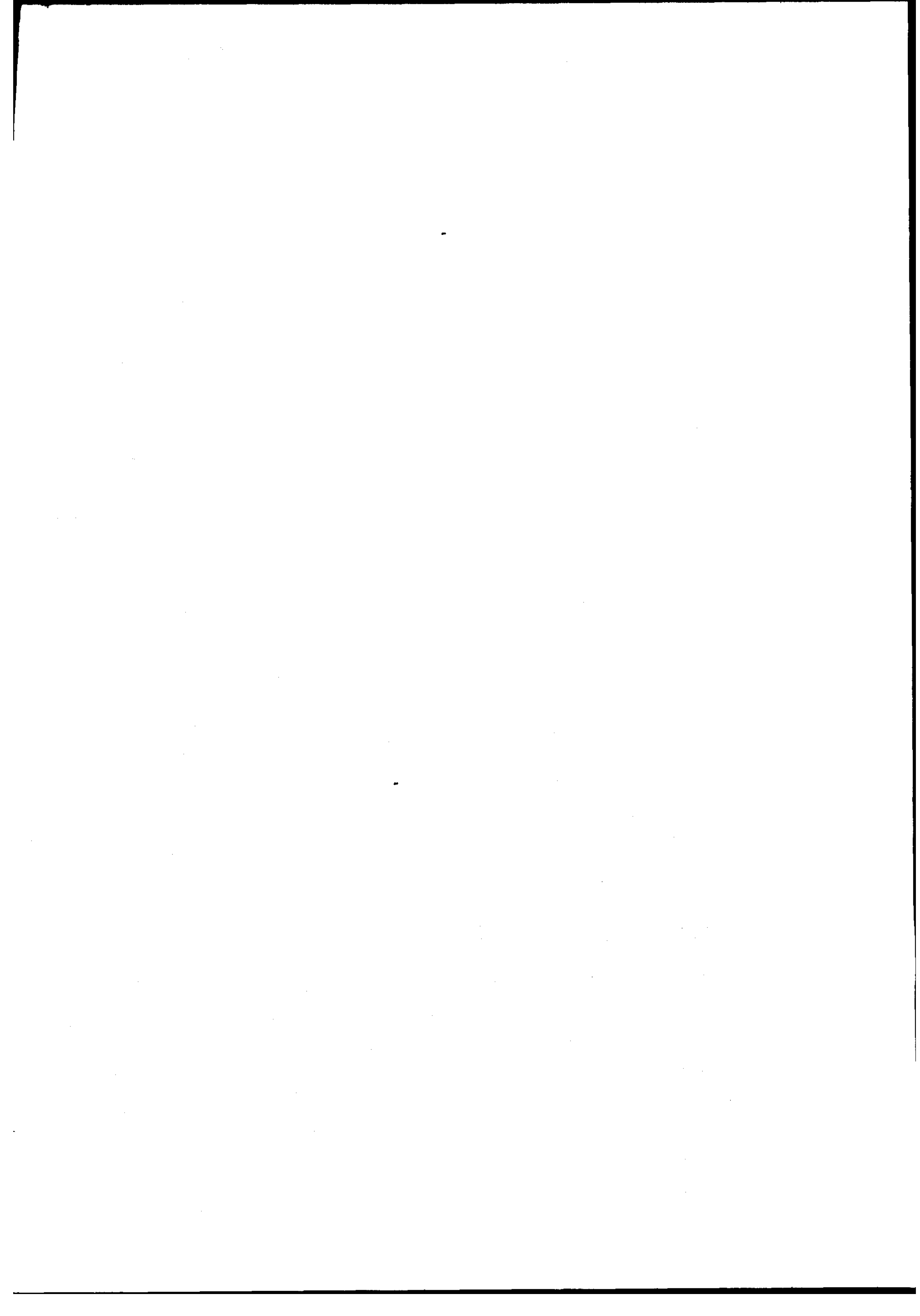
- والأنواع الخيطية غير المكونة للهتيروسست ، فانها تفصل مؤقتاً بين عملية التمثيل الضوئى التى تتم فى وجود الضوء وينتج عنها أكسجين ، وبين عملية تثبيت النتروجين التى تتم فى الظلام فى غير وجود الأكسجين .
- وتقوم كثير من خلايا السيانوبكتريا عند تثبيتها للنتروجين ، بزيادة معدل تنفسها وبالتالى زيادة معدل استهلاكها للأكسجين ، فتوفر بذلك وسطاً مناسباً لنشاط إنزيم النتروجينيز .

وبالإضافة إلى حساسية إنزيم النتروجينيز للأكسجين ، فإنه حساس أيضاً لمركبات النتروجين غير المثبتة ، إذ لوحظ أن إضافة مركبات النتروجين للسيانوبكتريا ، فى صورة نترات أو أمونيا أو يوريا أو احماض أمينية ، يثبط من تخليق إنزيم النتروجينيز ومن نشاطه فى عملية تثبيت النتروجين الجوى .

كمية النتروجين المثبتة بواسطة السيانوبكتريا

وجد فى دراسات المزارع النقية ، بواسطة (Subba Rao, 1999) ، أن كمية النتروجين المثبت بواسطة السيانوبكتريا تتراوح مابين ٥ إلى ١٤,٥ مجم N لكل ١٠٠ مل بيئة ، وذلك حسب نوع السلالة وفترة التحضين .

ومن الدراسات التى استخدم بها ^{15}N (Subba Rao, 1999) ، وجد أن النوستوك يثبت حوالى ٤٠ كجم N للهكتار فى السنة ، وذلك فى أراضى الأرز الفقيرة فى النتروجين (بها نسبة N حوالى ٠,٠٦٧%) ، أما فى الأراضى الغنية بالنتروجين نسبياً (بها نسبة N حوالى ٠,١٧%) فان كمية N المثبتة كانت ٥ كجم N للهكتار فى السنة ، بمعنى أن كمية النتروجين المثبتة تقل فى الأراضى الغنية بالنتروجين ، أو المسمدة بأسمدة نتروجينية .



ثالثاً : التجمع الجينى فى السيانوبكتريا*

Recombination of Cyanobacteria

التجمع الجينى

تعتبر الدراسات الوراثية الخاصة بالتجمع الجينى فى السيانوبكتريا ، عملاً مشوقاً بالنسبة لهذه المجموعة من الكائنات ، لما تتميز به من صفات فريدة مميزة لها ، تجمع بين تلك الخاصة بالخلايا بدائية النواة كالبكتريا ، والخلايا حقيقية النواة كالنبات ، ويتضح ذلك فى قدرة السيانوبكتريا على تثبيت نتروجين الهواء الجوى ، وفى تلاؤمها اللونى مع الوسط Chromatic adaptation ، وبتمثيلها الضوئى مع انتاج أكسجين ، وقدرتها على التميز الخلوى Cellular differentiation بتكوينها لعدد من الحويصلات والجراثيم ، كخلايا الهتيروسست والخلايا القزمية (البايوسايت) Baeocytes ، وجراثيم الأكينيت ، والهرموجونيا .

ويرجع تاريخ دراسات التجمع الجينى الوراثية بالسيانوبكتريا ، الى بداية الستينات ، حيث تمكن Kumar, H.** عام ١٩٦٢ ، من الحصول على أول طفرة من *Anacystis nidulans*، وأثبت أن هذا التغير جاء نتيجة لتغير حدث فى المادة الوراثية للخلية .

وإضافة إلى ذلك ، فقد قام كومار بعمل تهجينات بين الطفرات الناتجة ، وحصل على تركيبات وراثية جديدة من ذلك الكائن، كما أثبت وجود بلازميدات بخلايا السيانوبكتريا .

وقد أدت أبحاث كومار وزملائه ، إلى تطوير الطرق الوراثية ، لتلائم دراسة وتحليل العمليات الفسيولوجية المختلفة التى تجرى بخلية السيانوبكتريا ، (كما يحدث فى التمثيل الغذائى، والتمثيل الضوئى ، وتثبيت نتروجين الهواء الجوى ، وتكوين خلايا هتيروسست) ، كما أدت تلك الأبحاث أيضاً ، الى تطوير طرق دراسة وإحداث النقل الجينى بين خلايا السيانوبكتريا ، سواء عن طريق التزاوج Conjugation ، أو التحول الوراثى Transformation ، بالإضافة الى إحداث تقدم فى تقنيات الإكثار الجينى Cloning*** والتطفير الموجه Directed mutagensis لجينات السيانوبكتريا ، وبذلك أمكن إنتاج تركيبات وراثية جديدة من خلايا السيانوبكتريا .

---

* راجع انتقال العوامل الوراثية فى البكتريا ، ص ٥٨٣ ومايليها .

** In: Kumar and Kumar (1998)

*** Cloning : إكثار جينى ، كَلْوَنة

تكوين نسخ جينية متماثلة من الكائن أو البروتين أو النواه أو الجينات أو الحامض النووى ، بطرق لاجنسية بالهندسة الوراثية .

التزاوج : Conjugation

تتضمن عملية التزاوج نقل الحامض النووى الدنا DNA عن طريق تلامس خلية مـــع خلية أخرى ، وهجرة الدنا من الخلية المانحة الى الخلية المستقبلة . وعادة فإن عمليــة الــتزاوج تتطلب اشتراك ثلاث بلازميدات

- البلازميد المنقول Cargoplasmid من الخلية المانحة الى الخلية المستقبلة ، ولابد أن يحتـوى هذا البلازميد على موقع قابل للكسر يسمى bom/nic أو Origin of transfer, ori T
- بلازميـد مســاعد Helpar plasmid يوجـد بنفـس الخليــة المانحــة ، يحمـل الموقـع Mobilizing gene, mob ، ينتج الانزيم القادر على كسر الموقع ori T بالبلازميد المنقـول ، وذلك قبل بدء عملية الانتقال
- البلازميد الناقل الخاص بالتزاوج Mobilizing plasmid ، ويحمل هــذا البلازميـد الموقـع الجينى Transfer, tra ، الذى ينتج الناقل الذى ينقل خيط الدنا المكسور Nicked strand of DNA من الخلية المانحة الى الخلية المستقبلة .

ينتقل الدنا من الخلية المانحة الى الخلية المستقبلة ، فى شـكل خيـط منفـرد Single stranded DNA ، وفى الخلية المســتقبلة يتـم تكويـن الخيــط المكمـل للحـامض النـووى Complementary strand ، ثم يأخذ البلازميد ثانية شكله الحلقى (أنظر الباب الثامن ، الفصـل الثانى ، ص ٦٠٤ ومايليها) ، ويمكن للبلازميد الناتج أن يتكرر Replicate [1] ، إذا إحتــوى على ربليكون Replicon [2] ، وكذلك يمكن للدنا المنقول ، من أن يدخل فى تركيبــات وراثيــة جديدة Recombinations [3] ، مع المناطق المتماثلــة بالدنــا ، ســواء تلــك الموجــودة فــى الكروموسوم ، أو فى بلازميدات أخرى موجودة بالخلية المستقبلة .

ولم يتضح حتى الآن الطريقة الدقيقة التى تعمل بها ربليكونات خلايا *E. coli* فى خلايا السيانوبكتريا ، ولكن من المرجح أن بعض بلازميدات *E. coli* ، يمكنها أن تنتقل وتتكرر بنجاح فى خلايا السيانوبكتريا ، بعد تحميلها على بلازميـدات تزاوجيــة ذات مــدى عوائلــى متســع Broad host range conjugal plasmids .

ومن المعروف أن عدداً من النواقل متعددة العوائل الخاصـــة بـــالتكرر Replicating shutlle vectors ، تحتوى على أثنين من الربليكونات ، الأول يعمل على تكرر البلازميد فـــى خلية *E. coli* ، والثانى يعمل على تكرره فى خلية العائل المستقبل . وقد أصبح من الممكن الآن تركيب هذه النواقل ، عن طريق دمج جزء بلازميد الســـيانوبكتريا المحتــوى علــى الجينــات المطلوبة لعملية التكرر ، فى بلازميد *E. coli* القادر على الانتقال Mobilizable plasmid ، أى المحتوى على موقع ori T ، واستخدام الناتج فى تقنيات الاقتران .

---

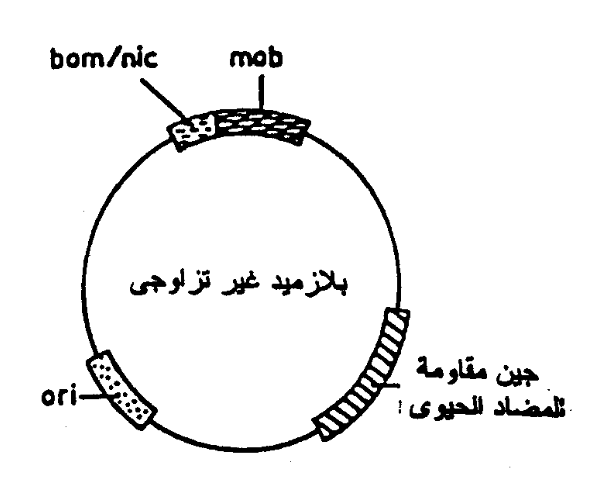
(1) Replicate : تكرر : تكون خيط جديد من حامض الدنا من الخيط الأصلى .

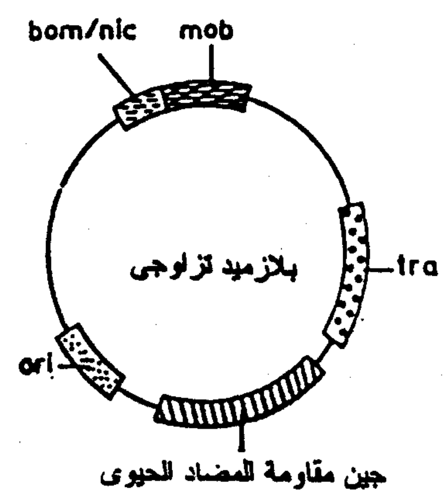
(2) Replicon : وحدة التكرار (الربليكون) : وحدة جينية ، بالكروموسوم تحتوى على انزيم بوليمريز DNA وانزيمات أخرى وموقع يبدأ عنده التكرار .

(3) Recombination : تجمع جينى ، اتحاد جينى : تكون تجمع جينى بالخلية الجديدة ، لم يكن موجوداً من قبل بخلايا الآباء .

كما أمكن أيضا بنجاح تركيب نواقل متعددة العوائل مأخوذة من سيانوبكتريا ، واستخدام الناتج فى تقنيات التحول الوراثى Transformation .

ويوضح الشكل [١٦ (٣)-١] التالى ، التركيب العام للبلازميد التزاوجى Conjugative plasmid ، والبلازميد غير التزاوجى Non-conjugative plasmid ، والاختلاف بينهما ، الذى يحدده غياب المنطقة التى تحتوى على tra .





شكل ١٦ (٣)- ١ : التركيب العام لبلازميد تزاوجى وآخر غير تزاوجى .

التحول الوراثى : Transformation

يقصد بالتحول الوراثى ، إحداث تغيير بالمادة الوراثيـــة الموجـــودة بالخليـــة ، وذلـــك بإدخال دنا إليها ، من خلية أخرى . ويتضمن ذلك إنتقال دنا معزول من خلية سلالة مانحة ، إلى خلية السلالة المستقبلة . وقد أمكن تطبيق هذه التقنيات بنجاح فى سلالات ســـيانوبكتريا وحيـــدة الخلية مثـــل *Synechococcus & Synechocystis* ، ســـواء أكـــان الدنـــا كروموســـومى أو بلازميدى .

وقد أمكن بالفعل تكوين عدداً من النواقل متعددة العوائل ، تحمل دلائل جينيـــة منتقيـــة Selectable markers [*] ، ويمكنها أن تتكرر فى كل من خلايا السيانوبكتريا وخلايـــا *E. coli* ، وقد استخدمت هذه النواقل فى نقل وإكثار عدداً من الجينات الكروموســـومية (الســـيانوبكتيرية) بخلايا السيانوبكتريا المستقبلة . وبذلك أمكن تكوين تركيبات وراثية جديـــدة Recombination ، مع الجينات المتماثلة فى جينوم خلايا السيانوبكتريا المستقبلة .

وقد استخدمت النواقل التى لم تكن قادرة على التكرار بخلايا السيانوبكتريا ، اســـتخدمت فى إحداث تركيبات وراثية جديدة ، وقد أفادت تلك التقنية فى مجال التطفير الموجـــه Targeted mutagenesis ، حيث يستبدل جين كروموسومى ، بأخر طافر محمل على الناقل .

---

[*] Marker : دليل : جين بالكروموسوم يؤخذ كعلامة لدراسة الجينات الأخرى .

﴿الباب السابع عشر﴾

أهمية السيانوبكتريا

المحتويـــات

الموضوع	الصفحة

(الباب السابع عشر)

أهمية السيانوبكتريا
Importance of Cyanobacteria

السيانوبكتريا ، كما ذكر سابقاً ، واسعة الانتشار ، وقادرة على النمو فى أوساط طبيعية متعددة ، ولها قدرة كبيرة على التلاؤم مع الوسط ، وتلعب بالوسط الذى توجد به أدواراً هامة ، من هذه الأدوار ماهو مفيد ، ومنها ماهو ضار .

أ - من النواحى المفيدة للسيانوبكتريا

١- تثبيت نتروجين الهواء الجوى

معظم أنواع السيانوبكتريا قادرة على تثبيت نتروجين الهواء الجوى تحت ظروف هوائية (أنظر تثبيت نتروجين الهواء الجوى بواسطة السيانوبكتريا ، ص ١١٠٣ ومايليها) .

وأوضح ماتكون عملية التثبيت ، نجده فى الأراضى الغدقة المنزرعة أرزاً ، وربما تعود إنتاجية وخصوبة أراضى الأرز الفقيرة فى النتروجين ، إلى وجود السيانوبكتريا بها ، حيث وُجد* أن السيانوبكتريا تثبت بتلك الأراضى الفقيرة فى النتروجين ، حوالى ٤٠ كجم N لكل هكتار فى السنة .

وفى الأراضى المختلفة وتحت الظروف المختلفة ، وجد* (Roger & Kulasooriya, 1980) أن نسبة النتروجين المثبت بالتربة ، يتراوح مابين ١٠ الى ٩٠ كجم N/ هكتار / سنة .

وبالاضافة الى تواجد السيانوبكتريا بشكل طبيعى فى بعض الأراضى ، خاصة الغدقة ، فإن السلالات المختارة من السيانوبكتريا تنمى بأحواض مناسبة ، وتجهز كلقاح ، ليستعمل كسماد حيوى بالأرض المنزرعة أرزاً ، وذلك لإغناء التربة بالنتروجين ومنظمات النمو (أنظر لقاحات الأسمدة الحيوية ، ص ١٠٠٨ ، وأنظر السماد الحيوى ، ص ١١٢٠) .

٢- تحسين خواص التربة

تعتبر السيانوبكتريا من محسنات التربة Soil conditioners ، التى تعظم من خواصها الطبيعية والكيميائية والحيوية ، بتحسينها لخواص التربة من حيث البناء والقوام ، والتحبب والتماسك والاحتفاظ بالرطوبة ، وتوفير بعض المغذيات الكيميائية ، وتشجيع نمو الكائنات الدقيقة .

---

* **Roger P.A. & S.A. Kulasooriya (1980). Blue-Green Algae and Rice.** International Res. Inst., Los Banos, Philippine.

ويأتى ذلك التحسن فى خواص التربة ، خاصة فى الأراضى المتعادلة و المائلة للقلوية، نتيجة لما تخلفه السيانوبكتريا من مواد عضوية ، وماتفرزه من سكريات معقدة ومغذيات ومنظمات نمو ، خاصة فى طبقة التربة السطحية ، حيث يتوفر بها الضوء والماء ، إضافة إلى ماتثبته من نتروجين الهواء الجوى .

وفى بعض الأراضى ، مثل مناطق الإستب Steppe النصف جافة ، تُكوِّن السيانوبكتريا النامية بالتربة ، وأغلبها أنواع خيطية لزجة ذات غلاف سميك ، تُكوِّن قشرة Crust على سطح التربة ، وهذه القشرة المتكونة من السيانوبكتريا ، تحسن من خواص التربة التى تقع بأسفلها ، بما تثبته السيانوبكتريا من نتروجين ، وماتفرزه من مغذيات ، كما أن تلك القشرة توفر حماية للتربة من الجفاف السريع ، وتقلل من فقد الماء بالهواء ، وتزيد من إحتفاظ التربة للمياه .

وتلعب السيانوبكتريا النامية على الصخور وفى شقوقها ، بما تفرزه من أحماض وماتخلفه من مواد عضوية وماتثبته من نتروجين ، الخطوات الأولى فى تحويل تلك الصخور ، إلى تربة صالحة لتتابع النمو النباتى عليها (أنظر تحولات الصخور ، ص ١٠٦٧) .

٣- إفراز منظمات النمو

تفرز السيانوبكتريا اثناء نموها الكثير من المواد المشجعة على النمو ، تسمى بمنظمات النمو Plant growth regulators ، من هذه المواد المفرزه ، الفيتامينات (مثل فيتامين ب١٢ والأسكوربيك) ، والأوكسينات (مثل الجبريللين والسيتوكينين) ، والهرمونات ، والأحماض الأمينية (مثل الألانين والجلايسين والجلوتامين) ، والأحماض الأمينية الحلقية كالفينايل ألانين .

وفى الأراضى الزراعية الملقحة بالسيانوبكتريا ، فإن ماتفرزه السيانوبكتريا من منظمات للنمو بجانب ماتثبته من نتروجين ، تعمل على زيادة إنتاجية الأراضى مما بها من محاصيل منزرعة ، مثل الأرز وبعض الخضر ، كالبطاطس والطماطم ، والفلفل والخس ... وغيرها .

٤- إفراز مواد حيوية فعالة

تفرز بعض انواع السيانوبكتريا ، مواداً حيوية مؤثرة على الوسط الذى تعيش به ، ومنها مايعمل كمضادات حيوية مقاومة للكائنات الممرضة الموجودة بالتربة ، ومنها مايستخدم فى العلاج الطبى .

من أمثلة هذه المواد التى تم التعرف عليها

أ - 2,5-Dimethyl dodecanoic acid

وهو مضاد للحشائش ويفرزه *Lyngbya aestuarii* .

ب - Cyanobacterin

وهى مادة كلورينية تحتوى على γ-Lactone ، مضادة لبعض أنواع السيانوبكتريا والطحالب حقيقية النواه ، وتفرزها *Scytonema hofinanni* .

جـ – Indole alkaloid hapalindole

وهو مضاد للفطريات ، ويفرزه *Hapalosiphon fontinalis*

د – δ-Lactone malyngolide

وهو مضاد للبكتريا ويفرزه *Lyngbya majuscula*

هـ – ومن المواد الحيوية التى تم التعرف عليها ، مادة Sulfonic acid- containing glycolipids ، التى تفرزها *Lyngbya lagerheimii* and *Phormidium tenue*

وتستعمل هذه المادة فى مقاومة الفيروسات المسببة لأمراض نقص المناعة بالجسم .

٥ – غذاء الأسماك

يوفر وجود السيانوبكتريا فى البلانكتون ، سواء فى البحار او المياه العذبة ، مصدرا غذائيا للأسماك والأحياء المائية الصغيرة .

كما يؤدى التمثيل الضوئى للسيانوبكتريا بالمياه ، الى توفير الأكسجين اللازم لحياة الأسماك ، وإزالة CO_2 الضار بها .

كما أن نمو السيانوبكتريا بالمياه ، يوفر بها المادة العضوية والنتروجين المثبت والمواد المشجعة للنمو ، مما يزيد من خصوبة تلك المياه .

٦– التخلص من المعادن الثقيلة : Removal of Heavy Metals

تستطيع السيانوبكتريا والطحالب الخيطية حقيقية النواه ، النامية بالبحيرات ومجارى أنهار المناطق الصناعية ، تخفيض محتويات الوسط المائى مما به من معادن ثقيلة مثل Cu, Hg, Mn, Pb, Zn ، من المستويات السامة إلى الحدود المسموح بها .

وتقوم السيانوبكتريا بإمتصاص تلك المعادن الثقيلة ، وترسيبها بجدارها الخلوى ، وأحيانا قد ترسبها فى محتويات الخلية الداخلية .

ومن أجناس السيانوبكتريا النشطة فى تلك العمليات الحيوية *Anabaena , Plectonema, Synechococcus* .

٧– نواتج تخميرية

تستخدم أنواع من السيانوبكتريا فى تقنيات حيوية* ، لإنتاج بعض المواد المفيدة ، كالسماد الحيوى لتلقيح أرض الأرز ، والبروتين وحيد الخلية الذى يستعمل كغذاء للإنسان ، وكعلف للحيوان .

---

* راجع التقنية الحيوية والسيانوبكتريا ، ص ١١٢٠ ومايليها ، التى توضح بعض استعدامات السيانوبكتريا فى التقنيات الحيوية .

ب – من النواحى الضارة للسيانوبكتريا

١–تلوث مياه البحيرات ومياه خزانات الماء

يؤدى نمو التجمعات الكثيفة من السيانوبكتريا وتحللها ، بالبحيرات وبمياه المجارى البطيئة السريان ، وفى المياه المخزنة بخزانات المياه ، الى تلوث تلك المياه ، وظهور مناظر غير مقبولة ، وتصاعد روائح كريهة ، ونقص بأكسجين المياه ، وتكون بعض النواتج السامة . قد يستعمل للتخلص من تلك النموات ، تركيزات منخفضة (١ فى المليون) من بعض مبيدات الطحالب مثل 2,3 Dichloro-1,4-naphthoquinone .

٢–صعوبة معاملة مياه الشرب

يؤدى نمو السيانوبكتريا بمياه الشرب المعدة للتنقية ، الى إعاقة عملية ترشيح المياه بالمرشحات الرملية ، نتيجة إنسداد تلك المرشحات من النمو الكثيف لبعض أنواع السيانوبكتريا ، مثل التابعة لأجناس *Aphanizomenon, Microcystis, Oscillatoria* ... etc. ، وفى هذه الحالة يعاد ترشيح المياه ، مع تغيير رمل الطبقات العليا من المرشحات ، وقد تعالج المياه بمبيدات الطحالب ، وتؤدى عملية كلورة مياه الشرب ، التى تعقب عملية الترشيح ، الى التخلص من تلك النموات من السيانوبكتريا .

٣–تلف حوائط المبانى

تنمو السيانوبكتريا على أسطح الحوائط الرطبة للمبانى العامة والأماكن الأثرية والنصب التذكارية ، وتسبب أضراراً بتلك الحوائط وتشوهاتاً بالمبانى الأثرية ، وماعليها من نقوش ورسوم زخرفية .

وفى المناطق المدارية ، تسود الأجناس التالية على حوائط المبانى *Oscillatoria* , *Scytonema* , *Tolypothrix* .

٤–التوكسينات (السموم)

هناك أنواع من السيانوبكتريا تكون سموماً ، تسبب متاعب لكائنات عديدة حشرية ومائية وثديية ، كما أن هذه السموم ، تؤذى الانسان عندما تتواجد بغذائه .

توكسينات السيانوبكتريا : Cyanobacterial toxins

كان فرانسيس (عام ١٨٧٨) * أول من كتب عن توكسينات السيانوبكتريا الموجودة بالبحيرات الاسترالية ، وأوضح تأثيرها الضار على الحيوانات . وعقب ذلك ، نتيجة لتطور طرق الفحص ، وتحسن التقنيات الخاصة بالكشف عن السموم ، فقد توالت المعلومات عن سموم السيانوبكتريا وعن خطورتها ، ووجد أنها تؤثر على كائنات عديدة ، مثل الحشرات كنحل العسل والأحياء المائية كالمحاريات والأسماك ، والطيور كنوارس وصقور البحر والبط ، والحيوانات كالقطط والكلاب . كما أنها تسبب متاعب صحية للإنسان ، وتسممات غذائية له ، عندما يستهلك مياها ، أو أغذية بحرية ملوثة ، بسموم السيانوبكتريا ، أو مياها مخزنة بخزانات مياه غير معالجة .

---

* **Francis G. 1878. Poisonous Australian Lakes. Nature 18: 11-12.**

أنواع السيانوبكتريا المكونة للسموم

يوجد مئات من أنواع السيانوبكتريا التابعة لعدة أجناس ، قادرة على تكوين سموم Toxigenic Cyanobacteria ، وتسبب هذه الأنواع مشاكل على الصحة العامة .

* من هذه الأنواع مايكثر وجوده فى المياه العذبة والبحيرات ، مثل

Anabaena flos-aquae, Aphanizomenon flos-aquae, Cylindrospermum raciborskii, Gloeotrichia echinulata, Microcystis aeruginosa, Nodularia sp., *Oscillatoria rubescens.*

وعندما تصل سموم هذه السيانوبكتريا لمياه الشرب ، فإنها تسبب تسمما للإنسان والحيوان ، وهذه التوكسينات ببتيدية التركيب ، تثبط نشاط إنزيمات الأنسجة المتأثرة بتلك السموم ، ومن أكثر أجزاء الجسم تأثرا بهذه السموم أنسجة الكبد والكلى .

* ومن الأنواع السامة التى تكثر فى المياه البحرية ، أنواع تابعة لأجناس

Lyngbya, Oscillatoria, Schizothrix

وغالباً فإن أنواع السيانوبكتريا المكونة للسموم ، تُكوِّن بداخل خلاياها فجوات غازية ، تساعدها على الطفو ، وتتجمع فى شكل طبقة وردية اللون Bloom فوق سطح الماء ، تتجذب مع الرياح تجاه الشاطىء ، ولذلك فإن تركيز السموم يقل كلما إبتعدنا إلى الداخل بعيداً عن الشاطىء ، وكلما تعمقنا أسفل سطح الماء .

سموم السيانوبكتريا ، طبيعتها ونوع تأثيرها

تختلف كمية السموم التى تكونها السيانوبكتريا بالوسط إختلافاً كبيراً ، ليس فقط بإختلاف المكان ، أو الزمان ، أو النوع ، ولكن حتى بين سلالة وأخرى من نفس النوع .

وتوكسينات السيانوبكتريا متعددة التنوع ، فمنها ماهو قلويدى ، أو ببتيدى أو ليبو عديد السكريات . وتسبب السموم القلويدية للإنسان ، شللاً فى عضلات التنفس ، وربما تؤدى إلى موته بعد دقائق من تناولها ، أما التوكسينات الببتيدية فإنها أقل خطراً من القلويدية ، وتؤثر أساساً على الكبد ، وعند تناولها لفترات طويلة ، فإنها تسبب فشلاً كبدياً .

أما أنواع التوكسينات الأخرى فانها تسبب إضطرابات معوية ، وتهيجا بخلايا الجلد . وعموماً ، فإن تعرض الانسان لسموم السيانوبكتريا بتركيزات قليلة ، لفترات طويلة ، قد يؤدى إلى تكوين الأورام .

وتصل سموم السيانوبكتريا للإنسان عن طريق تناول مياه شرب أو أغذية بحرية ، ملوثة بالسيانوبكتريا السامة .

جـ - التقنية الحيوية والسيانوبكتريا : Cyanobacteria and Biotechnology

تمثل السيانوبكتريا ، مجموعة فريدة من بدائيات النواة ، تتميز فى سهولة تنميتها ، باستعمالها لمصادر طبيعية متوفرة ، ورخيصة الثمن ، وذلك بإستخدامها لضوء الشمس كمصدر للطاقة مع إنتاجها للأكسجين ، وفى تمثيلها لثاني أكسيد كربون الجو ، وتثبيتها للنتروجين الجوى ، لبناء مكونات الخلية الكربونية العضوية والبروتينية . وتعتمد الكثير من طرق استخدام السيانوبكتريا فى التقنيات الحيوية ، على تلك الخصائص التى تتميز بها السيانوبكتريا .

ومن أهم تلك التقنيات انتاج الكتلة الحيوية من السيانوبكتريا Biomass production ، حيث تُنمى السيانوبكتريا تحت ظروف مناسبة ، للحصول على إنتاج وفير من كتلتها الحيوية ، ويستخدم الناتج من الكتلة الحيوية فى أغراض عديدة منها السماد الحيوى ، والغاز الحيوى ، والغذاء للإنسان ، والعلف للحيوان .

١- السماد الحيوى* : Biofertilizer

يقصد بالسماد الحيوى ، وقد يسمى أيضا باللقاحات الميكروبية Microbial inoculants كل الإضافات ذات الأصل الحيوى ، التى تضاف لوسط النمو النباتى ، لتمد النبات بإحتياجاته الغذائية ، ومن أمثلة الأسمدة الحيوية ، لقاحات البكتريا العقدية ، والفرانكيا ، ولقاحات السيانوبكتريا .

وتستخدم السيانوبكتريا ، لإنتاج سماد حيوى رخيص الثمن ، تسمد به الأراضى الغدقة المنزرعة أرزاً ، مما يؤدى الى زيادة إنتاجية المحصول المنزرع ، بما يوفره السماد الحيوى المضاف من سماد نتيوجينى مثبت (حوالى ١٠ الى ٣٠ كجم N / فدان فى موسم الأرز) ، وبما تفرزه سيانوبكتريا السماد الحيوى من مغنيات ومواد منظمة للنمو ، وماتخلفه من مواد عضوية بالتربة ، مما يؤدي الى زيادة محصول الأرز بنسبة تصل الى حوالى ١٥% (Yanni *et al*, 1988)** .

ويتم إنتاج سماد السيانوبكتريا الحيوى ، بتنمية سلالات السيانوبكتريا المختارة ذات الكفاءة العالية فى النمو والتثبيت ، مثل تلك التابعة لأجناس *Anabaena, Nostoc, Plectonema, Tolypothrix* ، فى أحواض أسمنتية حوالى ١ × ٢ متر ، مفروش فى قاعها طبقة من التربة المخلوط بها السوبر فوسفات ، والمغمورة بالمياه بارتفاع ٥-١٥ مم .

قد تقام الأحواض الأسمنتية بالحقل تحت ظروف طبيعية للاستفادة من الضوء والهواء ، أو تقام داخل صوبات زجاجية مزودة بإضاءة صناعية .

---

* أنظر لقاحات الأسمدة الحيوية ، ص ١٠٠٨ .

** Yanni, Y.; S. Shaalan and F. Mahrous, 1988. Effect of algalization on rice plant growth, yield, N content and efficiency of N-use under different nitrogen fertilization treatments. Proc. 2nd Conf. Agric. Dev. Res., Ain-Shams Univ., Annals Agric. Sci., Sp. Issue, 2: 204-215.

وبعد تلقيح السيانوبكتريا بالأحواض ، تترك للنمو لمدة أسبوعين تقريباً ، حتى يتم تكون طبقة كثيفة من السيانوبكتريا على سطح الماء ، ثم تجمع السيانوبكتريا النامية بكشطها ، وتترك لتجف قليلاً ، لتشجيع تحول خلايا السيانوبكتريا الخضرية ، الى جراثيم ساكنة (جراثيم الأكينيت) ، وهذه الجراثيم تمثل الوسيلة المناسبة للمحافظة على حيوية لقاح السيانوبكتريا الذى يعد للتسويق .

يباع اللقاح الناتج محملاً على مادة حاملة مناسبة ، معبأ فى أكياس من البولى اثيلين ، ويحتوى الكيس على حوالى ٢٠٠ جرام ، وهى كمية تكفى لتلقيح مساحة فدان منزرع أرزاً .

وعند الإستعمال ، يخلط اللقاح بكمية مناسبة من الرمل أو التربة الناعمة ، ويضاف للأرض نثراً فوق سطح الماء ، وذلك بعد شتل الأرز بحوالى أسبوع .

وعند انتاج لقاحات السيانوبكتريا ، يجب الإهتمام بالسلالات المحلية المتوطنة بالتربة ، بتوفير الظروف البيئية المناسبة لنموها وتكاثرها ، لما تتميز به تلك السلالات المتوطنة عن غيرها المنقولة ، من قدرة على التلاؤم مع الظروف البيئية المحلية المحيطة بها .

٢- الغاز الحيوى [١] : Biogas

يمكن استخدام الكتلة الحيوية الناتجة من نمو السيانوبكتريا ، فى إنتاج طاقة بديلة تعرف بالغاز الحيوى ، الذى يتكون من حوالى ٦٠% ميثان و ٤٠% ثانى أكسيد الكربون .

ويُنتج الغاز الحيوى بالتخمير اللاهوائى للمخلفات العضوية ، فى مخمرات مناسبة يجرى تقليب محتوياتها باستمرار . ويستعمل الغاز الحيوى الناتج كبديل لمصادر الطاقة التقليدية ، فى الإنارة والطهى والتدفئة وتوليد الكهرباء ، خاصة فى المناطق الريفية ، والمناطق النائية التى يصعب توفير البترول بها .

٣- غذاء الإنسان : Human food

تنمى السيانوبكتريا فى بيئة معدنية فى وجود الضوء ، وتستخدم الكتلة الحيوية الناتجة فى غذاء الإنسان ، كبروتين وحيد الخلية Single cell protein ، ومن أهم الأجناس المستخدمة فى ذلك *Spirulina* خاصة النوع *S. tecuitlatl* .

والسبيرولينا من أجناس السيانوبكتريا التى تنمو فى خيوط ، وهى ذات خلايا حلزونية، ولاتكون هتيروسست ، وتتميز بقدرتها على تثبيت نتروجين الهواء الجوى . ويحتوى مسحوق السبيرولينا على حوالى ٧٠% بروتين ، وهو يعتبر أعلى[٢] محتوى بروتينى لكل الأغذية الطبيعية .

كما أن مسحوق السبيرولينا خالى من الكولسترول ، غنى بالفيتامينات والمعادن كالحديد ، علاوة على تميز بروتين السبيرولينا عن بروتين البقوليات ، فى خلوه من السليلوز الموجود بجدر الخلايا النباتية ، مما يسهل من هضمه .

---

(١) أنظر الغاز الحيوى ، ص ١٠٠٥ ومايليها .

(٢) المحتوى البروتينى حوالى ٢٠% فى السمك ، و٣٥% فى اللبن المجفف وفول الصويا ، و ٢٥% فى الفول السودانى .

ومن حيث محتوى بروتين السبيرولينا من الأحماض الأمينية ومقدار استفادة الجسم منها ، فإن بروتين السبيرولينا فى ذلك ، يلى بروتين البيض واللحوم ، ويتساوى مع بروتينات البقوليات ، ويعتبر بروتين السبيرولينا بحكم مكوناته وخلوه من الكولسترول والسليلوز ، غذاءاً ناجحاً لمن يعانون من عسر الهضم ، أو من متاعب فى إمتصاص البروتينات ، وفى علاج أنيميا نقص الحديد بالجسم .

وتستعمل السبيرولينا بشكل طبيعى فى تغذية الانسان فى بعض البلاد ، مثل المكسيك بأمريكا اللاتينية ، وتشاد بأفريقيا ، والهند وجنوب شرق أسيا ، وفى هذه المناطق يقوم الأهالى بجمع السبيرولينا النامية على سطح البحيرات بواسطة شباك دقيقة الفتحات ، ثم تجفف السبيرولينا هوائياً أو بالشمس ، وتحول الى مخبوزات تسمى فى تشاد بكعك ديها Diha cakes، أو تضاف الى الأغذية ، كما أن السبيرولينا تباع الآن فى بعض الصيدليات فى صورة مسحوق أو أقراص .

٤- أعلاف الحيوان : Animal fodder

يستخدم بنجاح مسحوق *Spirulina platensis* المجفف هوائيا أو بالشمس أو بالإمرار على اسطوانات ساخنة ، كمصدر للبروتين يضاف الى العلائق الحيوانية ، كعلائق الأسماك والدواجن والمجترات .

٥- صبغات غذائية

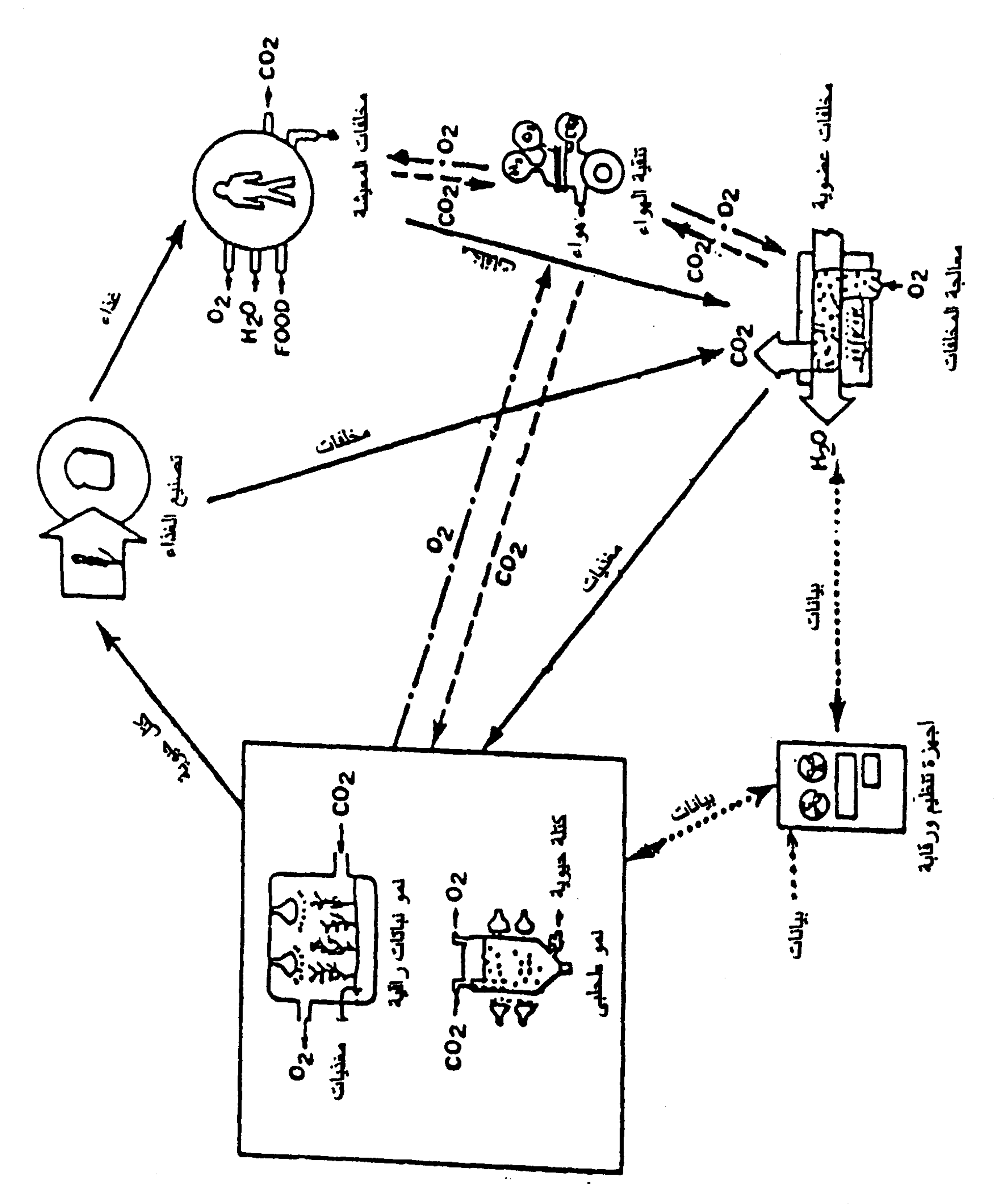
قد تنمى السيانوبكتريا لاستخراج صبغات من مستخلصاتها ، تضاف الى الأطعمة لتلوينها ، بديلاً عن مكسبات اللون الصناعية التى قد تسبب مشاكل صحية للمستهلك .

من الصبغات المستخلصة Phycobiliproteins, Phycocyanin and Phycoerythrin

وتستخلص هذه الصبغات الزرقاء والحمراء ، من أنواع بعض أجناس السيانوبكتريا مثل *Spirulina* and *Synechococcus* ، وقد بدأ إنتاج هذه الصبغات تجاريا فى بعض البلاد .

د - السيانوبكتريا وعصر الفضاء : Cyanobacteria and Space age

يحتاج الانسان أثناء رحلاته الطويلة بمركبات الفضاء ، إلى إمداد وافر ومستمر من الهواء والماء والغذاء . وإرسال تلك الإحتياجات من الأرض إلى مركبة الفضاء بشكل منتظم ومستمر ، عمل شديد الصعوبة وغالى التكلفة . ومن البدائل المتاحة الآن ، السهلة الإجراء الرخيصة التكلفة ، استخدام الطحالب الدقيقة الخضراء كالكلوريلا ، والسيانوبكتريا كالسبيرولينا، فى عمليات حيوية تتم بداخل مركبة الفضاء ، وذلك بتنميتها على المواد المتخلفة من الإنسان خلال رحلته الفضائية ، لتوفير مايلزم له من أكسجين وماء وغذاء [شكل ١٧-١] .



شكل ١٧ – ١ : رسم تخطيطى مبسط يوضح نظام حيوى داعم لاستمرار الحياة ، يتضمن طحالب دقيقة وسيانوبكتريا .

From : **Kumar and Kumar, 1998.**

References

مراجع السيانوبكتريا

Cresswell, R.C.; T.A.V. Rees and N. Shah (eds.). 1989. Algal and Cyanobacterial Biotechnology, Longman, London.

Elbadry, M. 2000. Cyanobacteria, A Review Article, Submitted to the Permanent Scientific Committee for Promotion for the Position of Professorship in Agricultural Microbiology. Supreme Council of Egyptian Universities, Cairo.

Fay, P. and C. Van Baalen (eds). 1987. The Cyabobacteria. Elsevier Publ. Co., Amsterdam, Netherland.

Kumar, H.D. and S. Kumar 1998. Modern Concepts of Microbiology. Vikas Publ. House P.V.T., New Delhi.

Pandey, S.N. and P.S. Trivedi. 1996. A Textbook of Algae. Vikas Publ. House P.V.T., New Delhi.

Prescott, L.M.; J.P. Harley and D.A. Klein. 1999. Microbiology, 3rd Ed., WCB Publishers, London.

Rogers, L.J. and J.R. Gallon (eds). 1988. Biochemistry of the Algae and Cyanobacteria. Clarendon Press, Oxford.

Stewart, W.D.P. (ed.) 1975. Nitrogen Fixation by Free Living Microorganisms. Cambridge Univ. Press, London.

Subba Rao, N.S. 1999. Soil Microorganisms and Plant Growth. Science Publishers Inc., New York.

William, R.H. (ed.) 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th Ed., Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, USA.

M

C

B

فهرس الأسماء العلمية

SCIENTIFIC NAMES INDEX

A

